

UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE

Faculté des Sciences de Marseille

N° D'ORDRE : 11

THÈSE

présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES
DE MARSEILLE

pour l'obtention

DU TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE
(MENTION SCIENCES)

par

André CAPILLAIRE

SYNTHÈSE BIOLOGIQUE DE LIPIDES EN PRÉSENCE DE PULPE D'OLIVE

Soutenue le

1941 devant la Commission d'Examen

MM. MARGAILLAN, *Président*
CHOUX } *Examineurs*
CALVET }

MARSEILLE

IMPRIMERIE DE LA SOCIÉTÉ DU « PETIT MARSEILLAIS »
19, Cours du Vieux-Port, 19°

1941

**SYNTHÈSE BIOLOGIQUE DE LIPIDES
EN PRÉSENCE DE PULPE D'OLIVE**

UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE

Faculté des Sciences de Marseille

N° D'ORDRE : 11

THÈSE

présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES
DE MARSEILLE

pour l'obtention

DU TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE
(MENTION SCIENCES)

par

André CAPILLAIRE

SYNTHÈSE BIOLOGIQUE DE LIPIDES EN PRÉSENCE DE PULPE D'OLIVE

Soutenue le

1941 devant la Commission d'Examen

MM. MARGAILLAN, *Président*

CHOUX

CALVET

} *Examineurs*

MARSEILLE

IMPRIMERIE DE LA SOCIÉTÉ DU « PETIT MARSEILLAIS »

19, Cours du Vieux-Port, 19

1941

FACULTE DES SCIENCES DE MARSEILLE

Mort au Champ d'Honneur : M. F.-R. MARTY,
Maître de Conférences de Mathématiques
14 juin 1940

Doyen et Professeur honoraire : M. A. MARCHAUD

Professeurs honoraires :

MM. M. CAULLERY, CH. FABRY, A. VAYSSIÈRE, E. FABRY, J. REPELIN,
J. PÉRÈS, L. HOULLEVIGUE, J. COTTE, E. DECROCK

Doyen : M. G. CORROY

Assesseur : M. A. TIAN

Professeurs :	MM. H. BUISSON	Physique générale.
	P. SEVE	Physique industrielle.
	A. TIAN	Chimie générale.
	M. KOLLMANN..	Zoologie générale.
	H. BIERRY	Physiologie.
	J. BOSLER	Astronomie.
	E. TRAYNARD ..	Calcul différentiel et intégral.
	L. MARGAILLAN	Chimie industrielle.
	G. CORROY	Géologie et minéralogie.
	P. CHOUX	Botanique générale.
Maîtres de Conférences :	E. RAYMOND ..	Chimie P. C. B.
	R. THIRY	Mécanique rationnelle et mé- canique des fluides.
	H. PRAT	Biologie végétale.
	G. PETIT	Biologie animale.
	C. JAUSSEMAN..	Physique P. C. B.
Chargés de conférences	* ROGER	Mathématiques.
	N.	Mécanique des fluides.
	MM. G. DENIZOT	Géologie.
Maîtres de conférences honoraire	E. CALVET	Chimie.
	MM. E. MEISSONNIER	
	L. LAURENT ..	
	F. VAN GAVER	
Chargé de cours honoraire	H. BIMAR	
	M. F. CHANCEL ..	
Secrétaire	M. A. CASTELLA ..	



* Prisonnier de guerre; suppléé par M. E. BLANC.

A LA MEMOIRE
DE
RAY ALLISON SPENCER

A MON PERE

A MA MERE

En témoignage de ma profonde affection

INTRODUCTION

Quoiqu'ayant été entreprises bien avant les hostilités de 1939, ces recherches ont un caractère d'actualité en raison de l'intérêt qu'a toujours présenté, et présente surtout à l'heure actuelle, le problème de l'approvisionnement en matières grasses, non seulement pour l'alimentation, mais également en ce qui concerne les industries de la savonnerie, de la stéarinerie et des textiles.

Si les lipides ont une importance primordiale à de nombreux titres, ils sont, aussi, d'origine coloniale ou étrangère. Nous sommes donc tributaires des transports maritimes pour la majeure partie de notre ravitaillement. Que celui-ci vienne à subir des perturbations et la métropole sera privée d'une matière première précieuse.

Tirer le parti maximum de nos faibles ressources est, pour le présent, une nécessité absolue, et sera, pour l'avenir, un moyen de vivre au maximum des produits du sol Français.

Rendement est donc aujourd'hui le terme qui doit primer dans toute exploitation, qu'elle soit agricole ou industrielle.

Retirer de nos oliviers une quantité supplémentaire d'huile signifie nous rendre un peu plus indépendant vis-à-vis de l'étranger.

C'est dans cet esprit, dans l'espoir d'avoir contribué dans une bien faible mesure à nous libérer davantage de tout ce qui ne porte pas l'estampille « France » que nous avons, après les hostilités et malgré les moyens très réduits dont nous disposions, poursuivi et achevé ce travail.

HISTORIQUE ET BUT DU TRAVAIL

La raison d'être de nos recherches repose en entier sur une remarque de Margaillan. Observation extrêmement intéressante par ce qu'elle laisse présager de l'avenir.

Margaillan, dans ses études sur les lipides a, en effet, remarqué que certaines graines oléagineuses broyées et mises en contact avec des matières sucrées, donnent lieu à une élaboration de matières grasses. Cet auteur a, en particulier, observé ces faits avec des pépins de raisins et des grignons d'olives.

Nous avons désiré approfondir cette question et cherché à connaître :

- 1° — Dans quelle mesure on pouvait escompter une augmentation de la teneur en huile.
- 2° — Les moyens d'y parvenir.
- 3° — Quel rendement on en pouvait attendre.
- 4° — Les caractères des huiles ainsi obtenues au point de vue de leurs emplois ultérieurs.
- 5° — Déterminer enfin les bases d'une exploitation rationnelle.

Qu'a-t-il été fait dans cet ordre d'idée ?

Nous ne voyons guère qu'un travail de quelque importance pouvant se rattacher à cette question, c'est celui de Fiedler, qu'en raison de l'intérêt qu'il présente, il nous a paru utile de reproduire dans les pages qui vont suivre ; encore est-il assez superficiel en ce sens qu'il ne tient aucun compte de nombreux facteurs qui, comme nous le verrons plus loin, jouent cependant un rôle primordial dans l'oléosynthèse.

En outre, les observations que nous allons rapporter n'ont trait qu'à des recherches effectuées sur des graines alors que notre étude porte exclusivement sur un fruit essentiellement provençal : l'olive.

Nous nous sommes attachés, en premier lieu, à transposer les travaux précédents sur le plan des huiles de pulpe et, dans

ce cas particulier, voir s'il y a lieu de confirmer ou d'infirmer les travaux de Fiedler ; ceux-ci n'étant d'ailleurs qu'une étude critique des recherches de Ludecke pour lesquelles ce dernier a pris un brevet (1).

Les observations de Fiedler tendraient à démontrer que, dans le brevet de Ludecke, il n'y a pas, à proprement parler, synthèse de lipides à partir de glucides, mais une simple désagrégation des cellules de la graine et une exosmose de matières solubles dans l'éther de pétrole.

SYNTHESE DES MATIERES GRASSES

PAR FIEDLER

INST. CHEM. TECHN. UNIVERS. MUNSTER.

« FETTE UND SEIFEN 1938. 45 N° 3 DE MARS p. 183

Il a paru récemment un brevet allemand (Dr K. Ludecke DRP 647. 219 Kl 53 h Gr 1/01) intitulé « Procédé pour produire des huiles et des graisses en partant d'hydrates de carbone » et qui semblait devoir enrichir nos connaissances bien insuffisantes sur la formation biologique des graisses.

Comme notre propre institut s'intéresse à de semblables problèmes, j'ai entrepris, sur les conseils de M. H.-P. Kaufmann, une vérification des assertions contenues dans ce brevet.

Il nous semble nécessaire de publier nos recherches d'autant plus que, dans d'autres périodiques, ce brevet a attiré l'attention ainsi que le procédé qui y est décrit.

CF. SEIFENSIEDER ZEIT 1938. 65. 19.

ALLG. OEL ET FETTZEIT 1938. 35. 17.

Le procédé décrit dans ce brevet se caractérise de la manière suivante :

Des hydrates de carbone (sucres, mélasses, jus sucré ou sucre de bois) sont mis en réaction, en solution neutre ou alcaline ou acide, avec des graines ou des capsules de graines de plantes oléagineuses en présence de sels qui agissent comme catalyseurs (sulfate de magnésie par exemple).

Les graines pulvérisées sont recouvertes par la solution sucrée. On ajoute des catalyseurs appropriés (sulfate de magnésie, sulfate

(1) K. LUDECKE D. R. P. 647. 219 Kl 53h gr 1,01.

de soude, bicarbonate de soude ou acide sulfurique). On laisse ensuite reposer le mélange pendant quelque temps.

Afin de récupérer la matière grasse on filtre la masse ou on l'essore et le résidu est extrait à l'éther de pétrole léger.

Exemple : 25 gr. de capsules de graines de lin qui renfermaient 4,5 % de matières grasses ont été pulvérisés et mis en contact avec une solution de sucre de canne à 15 % à une température de 37°.

On a abandonné le tout pendant 25 jours. Puis on a filtré les capsules de la solution et on les a épuisées, après dessiccation, avec de l'éther de pétrole léger.

On a ainsi trouvé 1,6 gr. de matière grasse correspondant à une teneur de 6,4 %. L'augmentation était donc de 42 % sur la teneur initiale en matières grasses.

Lorsqu'on traitait simplement les capsules pulvérisées par de l'eau sans qu'il y ait de sucre, il se produisait une diminution de la teneur en matières grasses de 10 %.

Lorsqu'on prenait de la graine de lin broyée ayant une teneur en huile de 24,5 % et qu'on la mettait en contact d'une solution de sucre à 7 % renfermant 5 % de bicarbonate de sodium, qu'on laissait réagir pendant 18 jours à 20°, qu'on neutralisait la solution avec de l'acide sulfurique et qu'on élaborait le résidu comme précédemment, on pouvait constater une augmentation de la teneur en matières grasses de 29,7 % sur la teneur primitive.

Le preneur du brevet pense qu'il s'agit là d'une synthèse biologique de matières grasses et, à la vérité, sous l'action d'un ferment ou d'un enzyme.

J'ai repris ces expériences pour voir :

- 1° — S'il y avait effectivement augmentation de la quantité de matières grasses.
- 2° — D'autre part, pour contrôler si les produits obtenus sont véritablement des matières grasses, c'est-à-dire si l'on peut identifier l'extrait obtenu avec l'éther de pétrole léger à une graisse.

On a, suivant les indications données dans le brevet de l'auteur, traité des graines de lin broyées avec divers hydrates de carbone en présence de différents catalyseurs. On a laissé reposer pendant longtemps puis on a séché le filtrat dans le vide et on l'a extrait à l'éther de pétrole.

La graine de lin avait à sec une teneur en huile de 29,8 %. On la traitait par de l'eau, du glucose et de l'acide sulfurique. On

l'abandonnait pendant 30 jours ainsi que l'on indiquait ci-dessus ; puis on l'élaborait. On trouvait une teneur en huile de 38,72 %, c'est-à-dire un accroissement de 24,04 %. Dans les mêmes conditions, l'auteur du brevet signale un accroissement de 51 %. Peut-être la différence tient-elle à ce que nous avons rapporté nos teneurs à la matière sèche.

Après cette recherche, nous en avons entrepris une série d'autres dont les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Pour empêcher l'action des bactéries et des microbes, nous avons additionné nos solutions de chloroforme. Les ballons ont été soigneusement fermés par un tampon de coton.

La durée des recherches était de 35 jours.

Une recherche de contrôle était faite avec de l'eau.

Les résultats sont, en général, plus faibles que ceux indiqués dans le brevet, mais cela tient peut-être à ce que nos recherches sont toujours rapportées à la graine sèche.

GRAINES DE LIN AVEC :	% D'HUILE A L'ORIGINE	% D'HUILE APRÈS TRAITEMENT	AUGMENTATION EN %
Eau pure	29,25	29,10	— 0,51
Solution à 15 % de glucose	29,25	31,40	7,35
Solution à 15 % glucose plus 5 % bicarb. Na ..	29,25	32,80	12,14
Solution à 15 % glucose plus 2 % bicarb. Na ..	29,25	32,60	11,45
Solution 15 % glucose plus 1 % Ac. Sulfur.	29,25	36,38	24,38
Solution 15 % glucose plus 3 % carbonate d'ammoniaque	29,25	32,06	9,68
Pépins de raisin avec :			
Solution 15 % glucose plus 1 % acide sulfur.	14,80	16,40	10,81
Résidus d'extraction de pépins de raisin avec :			
Solution 15 % glucose plus 1 % acide sulfur.	0,01	0,22	10 »

D'où provient cette augmentation apparente de l'huile ?

Il faut tout d'abord mettre en doute le fait qu'il s'agisse ici de fermentation enzymatique. Il est en effet douteux qu'un ferment puisse agir aussi bien en solution acide qu'en solution neutre et en solution relativement fortement alcaline.

Les assertions du brevet que les rendements dépendent de la durée de l'action de l'enzyme se trouvant dans la graine sur l'hydrate de carbone permettent de penser qu'il ne s'agit pas là d'une synthèse de matière grasse, mais bien plutôt de la transformation d'une substance à l'origine insoluble dans l'éther de pétrole en une substance de forme soluble, c'est-à-dire en une exosmose de substances non de la nature des matières grasses.

Pour bien montrer qu'il s'agissait d'une exosmose et d'une exosmose ne se rapportant pas à la matière grasse de la graine, nous avons institué une série de recherches :

Plusieurs graines diverses ont été broyées, puis ensuite chauffées pendant 10 minutes avec de l'acide sulfurique étendu. On a filtré, séché et extrait au soxhlet pendant 6 heures. On a ensuite extrait plusieurs fois les eaux de lavage à l'éther de pétrole.

Les recherches ont donné les résultats consignés dans le tableau suivant :

	% D'HUILE A L'ORIGINE (graine sèche)	% D'HUILE APRÈS TRAITEMENT	AUGMENTATION
Graines de lin	29,25	32,83	12,28
Pépins de raisin	10,01	11,63	16,38
Soja	16,60	20,14	21,32

Les résultats obtenus avec les résidus d'extraction des pépins de raisin sont encore plus intéressants :

Teneur en huile après 12 heures d'extraction 0,31 %

*Après traitement à l'acide sulfurique, après 6 heures
d'extraction 0,69 %*

Après traitement à la soude 1,68 %

Cette « huile » a été étudiée de plus près et comparée avec une huile de pépins de raisin originale, huile provenant des mêmes raisins que précédemment.

	<i>Huile originale</i>	<i>H. après traitement</i>
<i>Indice d'Iode</i>	83	171
<i>Indice de saponification</i>	193	190,06
<i>Insaponifiable</i>	0,40	1,65

Il y a donc eu dissolution de substances qui ne sauraient être comprises sous la dénomination de « matières grasses ».

Il y a cependant parallélisme des recherches que nous avons effectuées avec celles indiquées dans le brevet Ludecke.

Il n'y a donc pas, dans le brevet Ludecke, production nouvelle de matière grasse, mais bien plutôt désagrégation de la graine et exsmose de matières qui sont solubles dans l'éther de pétrole.

En examinant le travail précédent, nous voyons que cet auteur s'appuie, pour infirmer les conclusions de Ludecke, sur le fait que l'apparition de l'huile nouvelle a lieu aussi bien en milieu alcalin, qu'en milieu neutre ou acide.

Mais l'on sait (1) que le Ph optimum n'est pas invariable et qu'il dépend dans une large mesure de plusieurs facteurs ; entre autre de la variété de l'enzyme en présence duquel on se trouve, de son degré de pureté et enfin du milieu dans lequel il agit. La lipase du Ricin, par exemple, suivant son mode d'activation et la présence de co-ferments, exige, tantôt une liqueur acide, tantôt une liqueur neutre. En outre le Ph optimum ne serait, d'après plusieurs auteurs, pas le même pour l'hydrolyse que pour la synthèse.

D'autre part le fait qu'un certain temps est nécessaire pour provoquer l'apparition de cette huile ne constitue pas non plus un argument contre l'hypothèse de la synthèse puisque la rapidité de réaction, dans les phénomènes diastasiques, est fonction de nombreux facteurs ; que ceux-ci ne paraissent pas avoir été étudiés dans les recherches de Ludecke et de Fiedler et, qu'en l'absence d'un ou plusieurs d'entre eux (Ph non adequat, concentration trop forte en sucre, etc...) la vitesse de réaction peut être réduite dans de très larges limites.

(1) COLIN : *Les Diastases*, I. Doin, édit. Paris 1931.

La lenteur de la lipogenèse peut être également due au fait que nous nous trouvons ici en présence de solutions colloïdales d'origine protoplasmique par suite d'une exosmose, due à la macération, du contenu vacuolaire des cellules de la pulpe d'olive ; contenu en majeure partie composé de substances à l'état colloïdal et dans lesquelles se trouve vraisemblablement inclus le lipofor-mateur.

Ce dernier, enrobé dans les gommes et mucilages cytoplasmiques, ne dialyse que progressivement à travers les parois cellulaires et cela, d'autant plus lentement, que nous sommes ici en présence de solutions colloïdales *naturelles* et pour lesquelles le « *murissement* » demande un temps relativement long (1).

(1) L. MEUNIER, *Chimie des colloïdes*. Baillière édit. Paris 1924.

RAPPEL DES HYPOTHESES ADMISES SUR LA FORMATION DES LIPIDES

Avant d'entreprendre l'exposé de nos méthodes d'expérimentation, il nous a paru nécessaire de rappeler brièvement l'état actuel de nos connaissances en ce qui concerne l'origine des lipides.

Cet exposé peut être considéré comme un avant-propos à nos recherches personnelles ; celles-ci étant la suite logique du processus de transformation — *in vivo* — des lipides, eux-mêmes considérés comme issus des glucides.

En somme, nous avons cherché, grâce à l'apport de lipoformateurs pris dans une pulpe oléagineuse, à continuer *in-vitro* la synthèse de lipides à partir de glucides, synthèse se produisant physiologiquement dans les végétaux pendant le mûrissement du fruit.

LOCALISATIONS :

Nous ne nous étendrons pas ici sur les détails histologiques de la constitution cellulaire ; qu'il nous suffise de rappeler les points principaux où apparaissent les inclusions huileuses.

A l'intérieur du cytoplasma se forment puis grandissent des vacuoles. Celles-ci sont de deux sortes, les unes, enclaves vacuolaires proprement dites ou enclaves aqueuses contiennent l'eau et les substances hydro solubles ; les autres, enclaves lipidiques, contiennent les lipides et les corps oléo solubles.

Ces enclaves lipidiques, entièrement isolées de la substance vivante par une fine membrane, et dont l'origine est encore discutée, englobent la majeure partie des corps gras.

A côté de ces inclusions, il est possible d'observer l'apparition de corpuscules huileux à l'intérieur de certains plastes. Les membranes endo et ecto plasmiques contiennent également des acides gras libres ou combinés (Nierenstein, Hanstein, Czapek, Nathanson, Pohl) et dont la teneur varie, d'après Hansteen Cranner, de 3 à 5 %. Dans la constitution des lamelles de subérine de certaines membranes entrent aussi des glycérides (Kugler, Von Schmidt,

Van Wisselingh) ; en outre, le nucleoplasma est en partie constitué par des lipoproteïdes. Mais tous ces lipides complexes, partie intégrante de la substance vivante, ne représentent qu'une très faible partie du total et ne peuvent d'ailleurs être extraits par les moyens usuels (expression ou extraction aux solvants volatils) qu'après désintégration préalable de leur substratum vital.

ETAT PHYSIQUE :

Constituées à l'origine par de fines gouttelettes indépendantes, ces particules, lorsque leur nombre augmente, s'accroissent les unes avec les autres, fusionnent et finissent par ne former qu'une seule grosse goutte remplissant entièrement la cellule.

Ici les opinions des auteurs diffèrent. Alors que certains estiment que l'on a affaire à de véritables inclusions huileuses qui, non miscibles avec le protoplasma, repoussent celui-ci sur les bords de la cellule, d'autres cytologistes considèrent qu'il se forme, lorsque la quantité de lipides augmente, une émulsion colloïdale oléoprotoplasmique et assimilent ainsi les particules huileuses à des micelles.

Il y aurait beaucoup à dire sur cette hypothèse, mais cette étude sortirait du cadre de notre travail.

Origine glucidique des lipides

BIOCHIMIE DE LA LIPOGENESE.

Examinons à présent la formation de ces lipides, à partir de ses éléments, au cours de la vie intra-cellulaire.

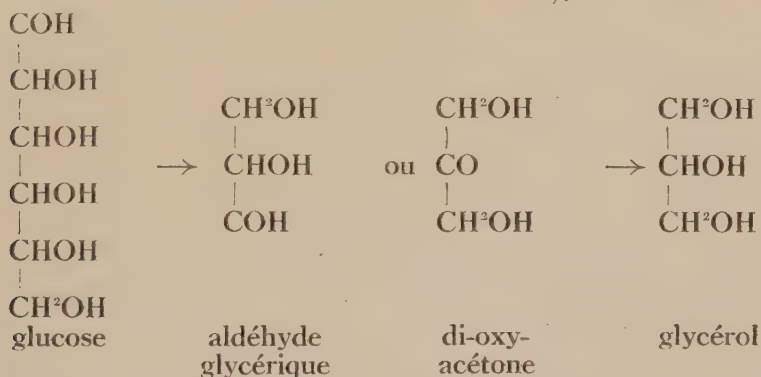
— Si nous prenons un fruit oléagineux (l'olive par exemple) et que nous le suivions tout au long de son mûrissement, nous voyons qu'il est, au début, presque exclusivement constitué par des glucides et des protéïdes. Par la suite, alors que les matières azotées continuent à croître régulièrement, nous constatons, au contraire, que les glucides disparaissent progressivement et qu'une apparition concomitante d'acides gras a lieu.

Ces phénomènes successifs paraissent prouver, d'une part, que les glycérïdes ne préexistent pas dans le fruit. Ils se forment donc aux dépens des corps qui s'y trouvent déjà. Or, tandis que l'évolution des protéïdes ne paraît pas subir de modifications au moment de l'apparition des lipides, Leclerc du Sablon, Iwanow et Vallée

ont montré que les glucides regressent au fur et à mesure de l'augmentation des acides gras. La formation des seconds est donc en rapport étroit avec la disparition des premiers. D'autre part, l'apparition de ces acides précédant l'apparition des glycérides et l'augmentation de ceux-ci étant concomitante à la régression de ceux-là, on peut en déduire, avec Leclerc du Sablon, que le mécanisme de la formation des glycérides — *in vivo* — résulte de l'éthérification de ces acides gras.

Ceci étant admis, il reste à déceler l'alcool nécessaire à cette réaction. Or nous savons que celui-ci n'est autre que le glycérol et cela quel que soit le corps gras formé. S'il est assez facile de suivre ces acides depuis leur apparition jusqu'à leur disparition, par contre il n'a, jusqu'à ce jour, jamais été possible de mettre en évidence la présence de glycérol dans les végétaux. Sa disparition doit certainement suivre de très près son apparition.

Fischer admet que le glycérol se forme aux dépens des glucides avec l'aldéhyde formique ou la di-oxy-acétone comme terme intermédiaire.



S'il en était ainsi le glycérol pourrait entrer en combinaison avec les acides gras sous sa forme aldehydique ou cetonique et cela au fur et à mesure de sa formation, ce qui expliquerait l'absence d'accumulation de ce triol dans les cellules végétales. Nous tenons cependant à signaler que les hypothèses de Fischer ne comportent à leur base aucun fait d'observation probant susceptible d'en démontrer le bien fondé.

Quant aux acides gras l'étude de leur genèse en est plus facile car leur présence peut être facilement mise en évidence soit par des réactifs histochimiques, soit par extraction aux solvants volatils.

C'est ainsi que de nombreuses analyses démontrant que la disparition des glucides précède de peu l'apparition des premières traces d'acides gras, on en a conclu que ces derniers sont formés à partir des premiers.

Une preuve indirecte en est également donnée par la variation du quotient respiratoire au cours de la maturation. Au début de la croissance du fruit, Gerber a montré que ce quotient est sensiblement égal à l'unité ; c'est la période pendant laquelle les glucides apparaissent — in situ — ou par migration depuis les feuilles :

$$\frac{6 \text{ CO}^2 + 6 \text{ H}^2\text{O} = \text{C}^6\text{H}^{12}\text{O}^6 + 6 \text{ O}^2}{\frac{\text{CO}^2}{\text{O}^2} = 1}$$

Par la suite, ce quotient devient supérieur à l'unité et peut atteindre 1,4 à 1,5 ; ce qui indique une diminution d'absorption d'oxygène extérieur, or c'est justement pendant cette période que l'on observe la disparition des oses et leur remplacement par des acides gras. Cette transformation pouvant s'écrire schématiquement :



On voit qu'il y a bien élimination d'oxygène dont le protoplasma se sert pour son métabolisme.

ETHÉRIFICATION :

Une fois en présence, acides gras et glycérol se combinent ensemble pour donner des glycérides.

Notons que cette éthérification ne commence qu'assez tard, lorsqu'une certaine quantité d'acides s'est déjà formée. Il y a donc toujours, dans un fruit en voie de maturation, des glycérides et des acides libres ; la neutralisation de ces derniers ne s'effectuant que progressivement et avec un certain retard sur leur apparition. La présence d'un constant excès d'acides gras pourrait d'ailleurs expliquer l'absence d'accumulation de glycérol, ce dernier étant éthérifié au fur et à mesure de sa création ou même, ainsi que nous le signalions plus haut, sous sa forme aldéhydique ou cétonique.

CARACTÈRES CHIMIQUES :

Si le glycérol est le seul constituant alcoolique des lipides contenus dans les graines et dans les fruits oléagineux, il n'en est pas de même des acides gras dont le nombre d'atomes de carbone peut varier, par termes pairs de C^{12} à C^{18} . Les uns étant saturés, les autres possédant une, deux ou même trois doubles liaisons. Nous n'avons pas à entrer ici dans le détail de la constitution chimique de ces lipides ; notons cependant que celle-ci varie non seulement d'une espèce végétale à l'autre, mais varie également au cours de la maturation dans un même fruit. Constitués à l'origine par des acides saturés (acide palmitique, acide stéarique) il apparaît, en fin de mûrissement, des corps de plus en plus insaturés (acide oléique, acide linoléique, acide linolénique).

Cette composition varie aussi avec le climat. Dans les pays tropicaux, par exemple, les végétaux oléagineux donnent lieu à une élaboration de lipides concrets (acides saturés), alors que dans les pays tempérés ou froids les huiles extraites sont fluides à la température ordinaire (acides insaturés).

CATALYSEURS D'ÉTHÉRIFICATION :

Comme pour la majeure partie des phénomènes biologiques, et ainsi que le démontrent les expériences de Rechenberg, Armstrong et Gosney, l'éthérification est réalisée par des diatases, en l'espèce des estérases et, pour le cas qui nous occupe, des lipases, dont l'action réversible peut, suivant les conditions, donner lieu à une hydrolyse ou à une synthèse de lipides.

Iwanow, en particulier, a pu réaliser la synthèse de glycérides en partant d'acides gras et de glycérol et en mettant ceux-ci en contact avec un extrait glycériné de graines oléagineuses contenant des lipases. Dunlap et Gilbert ont atteint le même résultat en se servant de poudre de graines déshuilées.

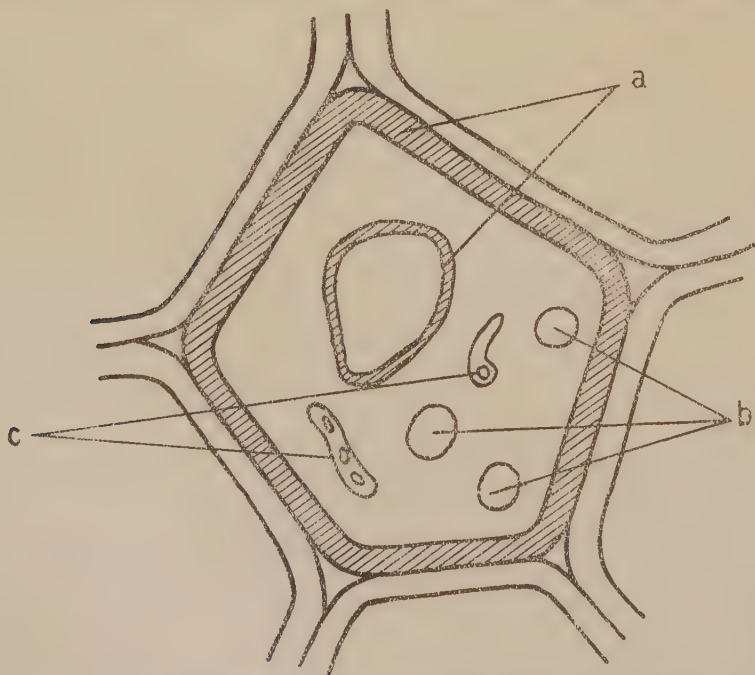
Morel, Velluz, Willstätter et Waldschmidt-Leitz ont observé, qu'en raison de la réversibilité de ces enzymes, la teneur en eau du milieu doit être étroitement surveillée, l'hydrolyse ou la synthèse des glycérides étant conditionnée par la présence ou l'absence de toute trace d'eau dans les macérations. Nous attirons l'attention sur ce point particulier du comportement des lipases car, ainsi que nous le verrons plus loin, l'hydratation du milieu ne joue plus lorsque la lipase brute, c'est-à-dire encore enrobée de son substratum vital lipoprotéique, est mise en présence de glucides.

Il en est de même pour les expériences de Winckler sur l'amilogénèse dans lesquelles, malgré la présence d'une importante quantité d'eau, cet auteur a pu réaliser — *in vitro* — la synthèse de l'amidon avec de l'amylase.

Willstätter, ainsi que Waldschmidt-Leitz ont d'ailleurs constaté que la sensibilité à l'eau des solutions diastasiques était en rapport avec les corps gras accompagnant ces ferments. La purification de ceux-ci, et en particulier leur déprotéination et leur délipidation pouvant en altérer profondément les propriétés. C'est la raison pour laquelle, Winckler et nous-même, avons préféré utiliser ces enzymes à l'état brut, tels qu'ils se présentent *in vivo*, en employant pour cela de la pulpe de fruits en voie de maturation, simplement broyée.

LIEU D'ÉLABORATION ET MIGRATION :

Les glucides sont les éléments transportables par excellence. Elaborés en majeure partie dans les organes chlorophylliens d'où



- a — Membranes dans la composition desquelles entrent des lipoprotéides.
- b — Enclaves lipidiques.
- c — Oléoplastes avec inclusions huileuses.

ils émigrent facilement, on les rencontre dans toutes les parties des végétaux et en particulier dans les graines et dans les fruits dans lesquels ils constitueront, après transformation en amidon ou en lipides, des substances de réserve pour la plantule.

On a également constaté que les acides gras peuvent se déplacer, mais cette migration est moins fréquente que pour les sucres.

Quant aux lipides simples (glycérides) ou complexes (phospho-lipides, phospho-amino-lipides, lipo-protéides), Funaro, Rousille et Rhine ont observé qu'ils se forment toujours in situ, soit par transformation des éléments venus de l'extérieur, c'est le cas des enclaves lipidiques, soit par combinaison de substances élaborées sur place par les oléoplastes (inclusions plastiques) par le nucléoplasma (phospho-amino-lipides) ou enfin, au sein de l'hydrogel protoplasmique constituant les membranes endo et ectoplasmique dans la composition desquelles, d'après Overton, les lipo-protéides entrent pour une grande part. Le dessin schématique précédent permet de se rendre compte de ces diverses localisations.

MOMENT D'APPARITION :

Nous avons dit plus haut que les glucides s'émigraient au fur et à mesure de leur élaboration, depuis les organes chlorophylliens jusque vers les fruits et les graines. Il se produit tout d'abord dans ceux-ci une accumulation de sucres. De nombreuses analyses ont, en effet, montré que la transformation des oses en acides gras ne commence qu'après le développement complet du fruit. A partir de ce moment, la quantité de sucre diminue et donne naissance, en premier lieu, aux acides saturés ($C^nH^{2n+2}O^2$), les acides insaturés ($C^nH^{2n-p}O^2$) apparaissent ensuite, puis sont neutralisés progressivement. La quantité de glycérides croît donc régulièrement jusqu'à maturité complète (dans le cas des olives ce stade est atteint lorsque le fruit est devenu entièrement noir) pour régresser ensuite légèrement en fin de mûrissement.

VITESSE DE LIPOGÉNÈSE :

Elle n'est pas uniforme. Lente au début, elle devient de plus en plus rapide jusqu'à la période de veraison (dans le cas des olives) pour décroître ensuite et s'annuler lorsque le fruit est mûr. A ce moment-là, elle devient négative, c'est-à-dire que le phénomène s'inverse et qu'à la liposynthèse fait suite une légère lipolyse, ainsi que l'ont montré De Luca, Rousille, Mesnard et Mac Clenakan.

Origine alcoolique des lipides

Faisons enfin état d'une hypothèse concernant la formation des acides gras aux dépens d'alcools supérieurs.

En 1861, De Luca avait cru déceler du mannitol dans les fruits de l'olivier et avait émis l'opinion que ce corps serait la substance mère des acides gras.

En 1896, Leclerc du Sablon, et par la suite Funaro et Hartwich, ont démontré que ces organes n'en renfermaient que des quantités infimes, ce qui ne pouvait pas expliquer l'apparition d'une aussi grande quantité de glycérides.

En 1908, Power et Tutin ont repris ces recherches et ont caractérisé dans les olives jeunes une abondante quantité d'oléanol ayant pour formule brute $C^{31}H^{50}O^3$. Au cours de la maturation il y aurait disparition de ce polyol et apparition concomitante de lipides. Scurti, Tommasi et Fornaini estiment que l'oléanol se forme dans les feuilles et émigre ensuite dans les fruits où il serait alors transformé en acides gras.

En 1931, Traetta Mosca a également pu extraire du liquide d'expression des olives une substance cristallisable à laquelle il a attribué la formule brute $C^6H^{14}O^5, H^2O$.

Enfin, tout récemment, Marcelet a mis en évidence dans la pulpe d'olive un corps possédant à la fois une fonction aldéhyde et une fonction alcool tertiaire, qu'il a appelé l'Aldoléol, de formule $C^{18}H^{36}O^4$ et qui, d'après lui, serait intermédiaire entre les lipides et les glucides.

CONCLUSIONS :

Nous voici donc en présence de deux hypothèses qui s'appuient toutes deux sur des faits précis d'observation. Il paraît difficile d'adopter l'une de préférence à l'autre.

Nous nous trouvons ici en face de phénomènes biologiques et les quelques corps que les analyses ont pu identifier ne constituent, sans doute, qu'une faible partie de ceux qui ont été élaborés, puis transformés au cours du métabolisme cellulaire ; témoin le glycérol dont la présence, sous une forme libre ou combinée, est indéniable, puisqu'il y a eu éthérification des acides gras et dont, cependant, on ne peut trouver de trace. Il est donc vraisemblable de penser que — in vivo — la synthèse des lipides à partir de ses éléments n'est pas aussi simple qu'elle pourrait le paraître et que les

glucides dont il est fait état dans la première hypothèse ou que les polyols de la deuxième hypothèse ont, chacun en ce qui les concerne, joué un rôle dans un processus dont nous n'apercevons que la résultante.

Il est possible que l'on puisse, plus tard, concilier ces deux façons de voir et attribuer aux sucres d'une part et aux alcools d'autre part, la place qui leur revient dans la suite des réactions biochimiques, dont les glycérides tels que nous les extrayons des fruits mûrs, sont le terme final.

PLAN DU TRAVAIL

Les travaux de Fiedler et de Ludecke très incomplets d'une part, se basant d'autre part, pour tirer des conclusions, sur un trop petit nombre d'expériences, ont été entièrement repris par nous dans des conditions absolument différentes, et transposés sur le plan des huiles de pulpe lesquelles, comme nous le verrons plus loin, demandent une technique spéciale et aboutissent également à des résultats très différents.

Nous avons ici cherché à savoir si, en partant de solutions sucrées, on pouvait obtenir biologiquement des lipides et, dans l'affirmative, les conditions optima de cette synthèse.

Cette transformation biologique exigeant des lipo-formateurs, il était nécessaire de mettre au contact de la solution sucrée, une substance contenant ceux-ci à l'état actif.

Pizon (1) signale que « les huiles de graines paraissent tirer leur origine des granules de sucre préalablement accumulées dans leurs tissus. Des graines de colza, par exemple, contiennent du sucre et de l'amidon d'abord en abondance. Ces substances diminuent peu à peu à mesure que la maturation s'avance, tandis que leur teneur en gouttelettes d'huile augmente progressivement.

Des graines de pavot isolées un peu avant maturité perdent de l'amidon et s'enrichissent en huile ».

Donc :

Pour obtenir des ferments encore actifs, on doit utiliser des graines en voie de maturation.

Ce qui est vrai pour les graines pouvant l'être pour les fruits, nous avons employé des olives en cours de mûrissement dans lesquelles doivent également se trouver des lipo-formateurs encore actifs.

Le problème se ramenait donc à celui-ci :

(1) PIZON : *Anatomie et physiologie végétale*. Doin, édit. Paris 1929.

Etant donné que dans l'olive se trouve certainement pendant la maturation une substance lipo-génétique agissant comme enzyme et qui, d'après les expériences de Saifi, est susceptible de transformer le sucre en matière grasse, il reste à savoir si cette substance lipo-génétique peut transformer en lipides, non seulement les glucides — in situ — mais encore ceux qui lui sont fournis de l'extérieur sous forme de solution sucrée.

En 1903, Pottevin a montré que les lipases peuvent avoir une action soit lipolytique, soit lipogénétique, suivant les éléments en présence desquels elles se trouvent.

De même qu'elles provoquent l'hydrolyse des lipides par dédoublement en glycérol et en acides gras, elles pourraient, dans des conditions différentes, réaliser la synthèse de ceux-ci à partir de ces mêmes éléments.

L'action réversible des enzymes étant, à l'heure actuelle, un fait nettement établi par Morel, Velluz, Willstätter et Waldschmidt-Leitz, nos lipo-formateurs ne seraient donc, en définitive, que des lipases jouant, pendant la maturation du fruit, le rôle de diastases synthétisantes, tout comme, inversement pendant la germination, elles présideraient à la lipolyse.

Par la suite, nous emploierons donc indifféremment les termes de lipo-formateurs ou de lipases étant entendu que nous sous-entendrons alors le mot « synthétisantes ».

La maturation des olives durant six mois et désirant étudier l'activité de ces ferments au cours de toute la durée du mûrissement, nous nous sommes tout d'abord servi de fruits verts, puis de fruits noirs.

Ayant constaté, par la suite, que les résultats différaient très sensiblement d'un stade de maturation à l'autre, nous avons été amené à considérer le stade critique intermédiaire, c'est-à-dire le fruit en période de veraison, au moment où, changeant de couleur, il passe d'un stade dans l'autre.

Nous verrons par la suite, l'intérêt que présente l'étude de ce cas particulier.

Il est à noter que, dans ces expériences, le produit essentiel est, non pas le fruit, mais bien la liqueur sucrée (qui, industriellement, pourrait être, par exemple, un tourteau encore riche en glucides). La pulpe d'olive est là uniquement pour l'apport de lipo-formateurs.

Le porteur de ferment étant ici une pulpe gorgée d'eau et non plus, comme dans les expériences de Ludecke ou de Fiedler, une graine déjà sèche, la technique exigeait des soins particuliers pour éviter l'éclosion et la prolifération des moisissures et des micro-organismes susceptibles de fausser les résultats par les transformations et les fermentations de toute nature qu'ils pourraient provoquer au sein du macéré.

..

DIVISION DE NOS RECHERCHES PERSONNELLES

La multiplicité des facteurs étudiés nous a imposé de diviser nos recherches en plusieurs parties bien distinctes dont on verra plus loin l'utilité, eu égard aux résultats obtenus.

Nous effectuerons en premier lieu une étude comparative de l'action de l'eau, puis de l'action des solutions sucrées, afin d'établir un point de départ au problème qui nous occupe, c'est-à-dire : chercher tout d'abord à savoir si la présence d'une certaine quantité de glucides dans le liquide de macération s'avère absolument indispensable à l'oléogénèse.

Ceci étant posé, nous pourrons alors passer à l'étude détaillée de chacun des différents facteurs entrant en jeu.

En deuxième lieu, nous étudierons l'action des olives vertes, puis des olives noires, en présence de différentes solutions sucrées, à des concentrations variables, en fonction de la température, de la durée, de la septicité du milieu et enfin, en fonction des catalyseurs employés.

En troisième lieu, nous examinerons l'action des olives à un stade critique de mûrissement (la véraison) en fonction de ces mêmes facteurs.

En quatrième lieu, nous étudierons l'action de la mannite : primo, en raison des controverses émises à son sujet ; secundo, étant donné que cet hexol, quoique faisant partie du groupe des glucides, possède une fonction chimique différente de celle des hexoses et des diholosides.

En cinquième lieu, nous analyserons les caractères de l'huile ainsi obtenue.

Enfin, en sixième lieu et comme résumé général, nous indiquerons les conditions à réunir pour arriver à l'optimum de synthèse, c'est-à-dire pour réaliser la quantité maximum d'huile, et nous ferons suivre celles-ci d'un projet de réalisation industrielle.

METHODES D'EXPERIMENTATION

TECHNIQUE DES EXPERIENCES

Après un certain nombre d'essais infructueux, les conditions d'expériences dans lesquelles nous opérons, inspirées en premier lieu de la technique employée par Ludecke et par Fiedler, s'étant révélées inopérantes dans le cas particulier de l'emploi d'une pulpe comme vecteur de lipo-formateurs, nous avons été amenés à les modifier profondément, tant en ce qui concerne la durée qu'en ce qui concerne les autres facteurs (antiseptiques, catalyseurs et variétés de sucre).

En outre, la recherche des conditions optima de cette synthèse (conditions non envisagées par les auteurs précités) justifie la multiplicité des facteurs mis en jeu.

Nous allons exposer, dans les lignes qui vont suivre, le détail des expériences que nous avons projetées, puis réalisées.

Du fruit, nous n'avons utilisé que l'épicarpe et le mésocarpe (pulpe) que nous avons hachés, afin de permettre un contact plus intime avec la solution sucrée. Nous avons rejeté l'endocarpe et l'amande (noyau) contenant très peu d'huile, même arrivés à complète maturité, donc peu de lipo-formateurs.

Les expériences proprement dites, consistent en des macérations de hachis de pulpe d'olives :

I. — A DIFFÉRENTS STADES DE MATURATION :

- a) Avant véraison (olives encore vertes) ;
- b) Après véraison (olives entièrement noires) ;
- c) Pendant véraison (olives commençant à se colorer).

II. — DANS DES SOLUTIONS DE DIVERS GLUCIDES :

- a) Eau (témoin) ;
- b) Solution de glucose à 0,1 %, 5 %, 10 % et 20 % ;
- c) Solution de saccharose à 5 %, 10 % et 20 % ;
- d) Solution de mannite à 1 %, 5 %, 10 % et 20 %.

III. — CES SOLUTIONS ÉTANT ADDITIONNÉES OU NON DE DIVERSES
SUBSTANCES CATALYSATRICES :

- a) Solution à 5 % de bicarbonate de sodium ;
- b) Solution à 10 % d'acide acétique ;
- c) Solution à 10 % d'acide sulfurique ;
- d) Solution à 5 % de sulfate de magnésium ;
- e) Solution à 10 % de carbonate d'ammonium.

IV. — A DIFFÉRENTES TEMPÉRATURES :

- a) à 20° ;
- b) à 40°.

V. — PENDANT DES DURÉES VARIABLES :

- a) 2 mois ;
- b) 6 mois ;
- c) 15 mois.

VI. — EN MILIEU SEPTIQUE OU ASEPTIQUE.

Sauf spécification contraire, nous utiliserons toujours les quantités suivantes des différentes substances entrant dans le mélange mis à macérer :

10 grammes de pulpe d'olives hachées sont mis à macérer dans :

50 cc d'une solution aqueuse d'un glucide additionnée ou non de :

10 cc de la solution de catalyseur à étudier.

En raison de la teneur variable en eau de la pulpe et afin d'unifier tous les résultats en leur donnant une base commune, ceux-ci seront toujours rapportés à la « matière sèche lavée » (10 gr. de pulpe fraîche correspondant environ à 2 gr. de matière sèche lavée).

Après mélange du hachis de pulpe avec la solution sucrée et éventuellement du catalyseur, et agitation intermittente pendant les premières heures afin d'assurer un contact aussi parfait que possible des divers éléments, nous laisserons au repos, à la température choisie et dans les conditions d'asepsie voulues, pendant une durée préalablement déterminée.

Ce temps écoulé, nous doserons la quantité de lipides contenus dans la macération et, par déduction de ceux préalablement apportés par la pulpe, nous obtiendrons la quantité de corps gras produits.

TENEUR EN MATIERE SECHE

Nous avons dit plus haut que les 10 gr. de pulpe fraîche correspondent à 2 gr. de matière sèche lavée, ce qui donne une teneur en eau de 80 %.

Cette teneur peut paraître excessive, en effet, Ruby (1) et Bonnet (2) n'en trouvent que 70 à 75 %.

Cette différence tient au fait que nous entendons par « Matière sèche lavée » le produit obtenu après hachage de la pulpe, macération aqueuse pendant plusieurs mois et enfin, *lavage* avant dessiccation.

Le hachage déchire les cellules et la macération en extrait toutes les matières hydro-solubles que le lavage élimine. Il est donc normal que notre pourcentage de matière sèche soit légèrement inférieur à la moyenne des taux trouvés par les auteurs précités.

DOSAGE DES LIPIDES APRES MACERATION

Après vieillissement de cette macération pendant une durée déterminée, nous la filtrons sur filtre taré et mouillé.

Nous lavons en plusieurs fois avec 500 cc. au total d'eau distillée afin d'enlever toute trace de sucre ou de catalyseur.

Nous séchons ce filtre et son contenu, à l'étuve à 110°, jusqu'à poids constant (8 heures minimum).

Nous pesons le tout avec précision et en déduisons le poids de pulpe sèche.

Nous introduisons filtre et matière sèche dans un soxhlet.

Afin d'éliminer les dernières traces d'eau, nous séchons à 100° le ballon ayant contenu la macération, nous le rinçons avec de l'éther de pétrole léger afin de récupérer les traces d'huile qui en tapissent les parois internes et nous ajoutons cet éther de rinçage à l'éther du soxhlet.

Nous extrayons ensuite pendant 8 heures minimum puis nous dosons l'huile suivant la méthode classique.

NOTA. — Nous avons pu constater qu'une durée inférieure à 8 heures était absolument insuffisante dans la plupart des cas, les matières cellulosiques et mucilagineuses retenant fortement l'huile et faussant les résultats.

(1) RUBY. — Recherches morphologiques et biologiques sur l'olivier. *Thèse Fac. Sc.*, Marseille 1917.

(2) BONNET. — L'Olivier. Ballière, Edit., Paris 1924.

DOSAGES DES GLUCIDES APRES MACERATION

En raison du temps relativement long (plusieurs mois) pendant lequel ces macérations sont laissées au repos, les microorganismes et, en particulier, le *Pénicilium glaucum* ont, dans les mélanges septiques et alcalins tout au moins, digéré une partie des glucides. De ce fait, les dosages de ceux-ci en fin d'expérience, se sont révélés illusoires ; la quantité de sucre détruite par les champignons et par les bactéries étant parfois supérieure à la partie qui aurait pu être transformée en matière grasse.

D'autre part, les catalyseurs introduits ont également hydrolysé une certaine quantité de matière sucrée. De ce fait, les analyses destinées à connaître la quantité de glucides non transformée en lipides se trouvaient entachées d'erreurs considérables.

Nous avons néanmoins effectué 38 dosages après macération de 6 mois. Nous n'en donnons pas ici les résultats, ceux-ci ne pouvant fournir aucune indication valable.

La méthode analytique utilisée était celle de Gabriel Bertrand.

Ces nombreux essais de dosages se sont révélés décevants, non seulement en raison de la digestion progressive du sucre par les micro organismes, ainsi qu'il a été signalé plus haut, mais également par suite de la présence de sels organiques dans les liqueurs.

En effet, lorsque la teneur en sucre est faible et en présence de certaines substances organiques, l'oxydule de cuivre, au lieu d'être dense et d'un beau rouge vif, devient orangé, jaune et même verdâtre et ne se dépose que difficilement. En outre, dans cet état, il traverse facilement les filtres.

Des essais de défécation à l'acétate basique de plomb et des essais de clarification au noir animal et au kieselghur, à chaud comme à froid, n'ont pas donné de meilleurs résultats. Ludecke ainsi que Fiedler ont d'ailleurs dû se heurter aux mêmes difficultés puisqu'aucun d'eux ne signale de résultats analytiques de sucre.

PROCEDES DE STERILISATION

Afin d'éviter l'éclosion et la prolifération de microorganismes, nous avons tout d'abord, comme Fiedler, utilisé le chloroforme à la dose de 2 puis de 5 et enfin de 10 centimètres cubes, sans constater de modifications appréciables dans le comportement de ces moisissures. Celles-ci continuant à proliférer comme par le passé.

Nous nous sommes ensuite servi de toluène aux mêmes doses. Ce produit s'est également révélé inopérant. Un mélange de toluène-chloroforme n'a pas donné de meilleurs résultats.

Ces recherches ayant pour but l'étude de transformations biologiques, il ne nous était pas possible d'envisager l'adjonction de doses plus fortes de ces antiseptiques et encore moins l'emploi de produits plus énergiques, tels que l'acide salicylique ou les fluorures, ces substances pouvant compromettre le processus de transformation des glucides en paralysant l'activité des enzymes.

En effet, à doses importantes, le chloroforme altère la lipase. Il en est de même de l'aldehyde formique et des fluorures. Ce dernier produit, quoique préconisé par Arthus et d'un emploi facile gêne fortement l'activité des diastases en général et de la lipase notamment ; nous n'avons donc pas voulu nous en servir et, afin d'éliminer ces risques d'erreur, nous avons abandonné les substances antiseptiques et avons eu recours à la chaleur humide sous pression. Procédé qui, comme nous le verrons plus loin, et contrairement à ce que l'on pourrait croire, ne compromet en rien l'action des lipoformateurs.

TENEUR EN HUILE A L'ORIGINE

Afin d'avoir une base bien déterminée pour le calcul de la variation de la teneur en huile, celle-ci étant assez irrégulière et variable d'un fruit à l'autre, ainsi d'ailleurs que sa teneur en eau, nous rapporterons à l'avenir, et comme nous l'avons déjà signalé, tous les résultats à la matière sèche. D'autre part, afin d'avoir une plus grande précision et une meilleure moyenne, nous avons opéré, pour déterminer la quantité exacte de lipides contenus à l'origine dans la pulpe d'olive utilisée, sur des quantités relativement grandes de matière. En outre, nous avons pris la moyenne de deux dosages.

EXPÉRIENCE A :

36,5 g de pulpe fraîche broyée et lavée ont été mis dans une cartouche à extraction, en papier joseph, d'un poids de 3,592 g.

Le tout a été porté à l'étuve à 110° jusqu'à poids constant.

Après 12 heures de dessiccation, on obtient 21,324 g ; après 20 heures 21,311 g. La pulpe étant gorgée d'eau (environ 80 % de son poids) et contenant également des matières mucilagineuses qui retiennent énergiquement celle-ci, une très longue dessiccation est absolument indispensable pour la chasser entièrement.

Le poids de pulpe sèche lavée est donc de (21,311 — 3,592) 17,719 g.

Après extraction à l'éther de pétrole léger (60-80) pendant 12 heures, on obtient 11,370 g. d'huile, soit une teneur de 64,2 %.

EXPÉRIENCE B :

43,8 g. de pulpe fraîche broyée et lavée sont mis dans une cartouche de 3,525 g. puis portés à l'étuve à 110° pendant 12 heures. On obtient alors 24,171 g. Après 20 heures, il reste 24,099 g.

Poids de pulpe sèche (24,099 — 3,525) = 20,574 g.

Après extraction au soxhlet pendant 12 heures, on obtient 13,397 g. d'huile, soit une teneur de 67,8 %.

Nous avons pris la moyenne des résultats des expériences A et B. Nous arrivons donc au chiffre de :

$$\frac{64,2 + 67,8}{2} = 66 \%$$

que nous utiliserons à l'avenir comme base pour le calcul des augmentations ou des diminutions du taux des lipides après vieillissement des macérations.

NOTA. — Dans la pulpe d'olives noires la teneur en huile, rapportée à la matière fraîche, est légèrement supérieure à celle de l'olive verte, mais, dans les fruits noirs, le taux de matière sèche est également un peu plus élevé.

En effet : alors que le taux de cendres, rapporté à la pulpe fraîche, atteint 1,042 % pour les olives vertes, il n'est que de 0,774 % pour les olives noires telles que nous les avons utilisées.

Ceci est d'ailleurs confirmé par Ruby, qui signale dans son travail que *la richesse en huile est déjà très élevée avant même maturation complète.*

Si nous rapportons la teneur en huile, non plus à la matière fraîche, mais à la matière sèche, nous obtenons donc très sensiblement les mêmes résultats, que nous opérons avec des fruits cueillis immédiatement avant véraison ou avec des fruits cueillis immédiatement après, l'augmentation de la teneur en huile, dans les fruits noirs, par rapport à la teneur dans les fruits verts, étant compensée par l'augmentation du poids de matière sèche dans les premiers. Nous rappelons que cette teneur est égale à : 66 % du poids de pulpe sèche *lavée* et cela, quel que soit l'état de maturité de celle-ci.

PREMIERE PARTIE

CAS DES OLIVES VERTES ET NOIRES

Avant tout, il était indispensable d'examiner jusqu'à quel point la présence de sucre était utile. Si, en effet, comme le prétend Fiedler, il n'y a pas, à proprement parler synthèse de matière grasse à partir d'hydrates de carbone, mais seulement exosmose de matières solubles dans l'éther de pétrole, ces glucides ne devraient avoir que peu ou même pas d'influence, puisqué la désagrégation cellulaire ne serait due, d'après cet auteur, qu'à la macération de celles-ci dans un milieu aqueux.

Fiedler signale, en outre, que la macération de graines de lin dans l'eau pure, provoque une diminution de 10 % dans la teneur originale en huile. On verra plus loin, qu'en ce qui concerne les huiles de fruits, il n'en est rien. Nous devons donc, en premier lieu, confirmer ou infirmer ces assertions.

Pour cela, il était nécessaire de vérifier l'utilité de la présence de sucre d'une part, et, d'autre part, de comparer les résultats obtenus en solution purement aqueuse avec les quantités d'huile que l'on pouvait extraire des macérations hydro-glucidiques.

Le chapitre suivant mettra en lumière l'action de l'eau dans différentes conditions d'expériences, ainsi que les modifications résultant de l'adjonction de glucides.

CHAPITRE PREMIER

ETUDE COMPARATIVE DE L'ACTION DE L'EAU ET DES SOLUTIONS SUCREES

Une première série d'expériences effectuée avec des olives vertes, en milieu septique, à la température de 20°, la macération ayant duré 6 mois, nous donne :

Avec de l'eau : une teneur de 68,5 % d'huile, soit une augmentation de 3,8 % (exp. 4) ;

Avec une solution de glucose à 5 % : une teneur de 68,9 %, soit une augmentation de 4,5 % (exp. 2).

Dans les mêmes conditions, mais en milieu aseptique, on obtient :

Avec de l'eau : une teneur de 68,4 %, soit une augmentation de 3,6 % (exp. 7) ;

Avec une solution de glucose à 5 % : une teneur de 70,9 %, soit une augmentation de 7,4 % (exp. 6) ;

Avec une solution de glucose à 10 % : une teneur de 71,4 %, soit une augmentation de 8,2 % (exp. 5).

L'augmentation de la teneur en huile est plus élevée en milieu aseptique qu'en milieu septique. Ceci était à prévoir, les bactéries et moisissures ayant été détruites.

Remarquons que l'eau pure ne provoque aucune diminution.

Avec des olives noires, en milieu aseptique à 20° et une macération de 6 mois, on trouve :

Avec de l'eau : une teneur de 68 %, soit une augmentation de 3 % (exp. 23) ;

Avec une solution de glucose à 5 % : une teneur de 84,8 %, soit une augmentation de 28,5 (exp. 19) ;

Avec une solution de glucose à 10 % : une teneur de 79,3 %, soit une augmentation de 20,1 % (exp. 18).

Alors qu'en milieu septique ces quantités sont ramenées à :

Avec une solution de glucose à 5 % : une teneur de 75 %, soit une augmentation de 13,6 % (exp. 12) ;

Avec une solution de glucose à 10 % : une teneur de 76,2 %, soit une augmentation de 15,5 % (exp. 13).

D'autre part, en milieu aseptique, à la température de 40°, on a extrait, après 2 mois de macération :

Avec de l'eau pure : 61,8 % d'huile, soit une diminution de 6,4 % (exp. 55) ;

Avec une solution de saccharose à 5 % : 71,3 % d'huile, soit une augmentation de 8 % (exp. 56) ;

Avec une solution de saccharose à 10 % : 69,5 % d'huile, soit une augmentation de 5,3 % (exp. 57).

Conclusions :

Les augmentations constatées dans les macérations avec de l'eau pure sont très faibles. Elles sont dues vraisemblablement à une désagrégation du tissu cellulaire au cours de la durée de macération, permettant ainsi une pénétration intra-cellulaire plus intime du solvant.

Mais, cette désagrégation ne suffit pas à elle seule, à expliquer les augmentations beaucoup plus considérables trouvées dans certaines conditions bien déterminées avec des glucides.

La preuve est donc faite que la présence, dans les macérations, d'une certaine quantité de sucre, est indispensable à l'oléogénèse.

CHAPITRE II

INFLUENCE DES CATALYSEURS

Les expériences précédentes nous ont montré que, dans certains cas, il était possible de provoquer l'apparition d'une certaine quantité d'huile nouvelle. Nous nous sommes alors proposé d'examiner s'il était possible, par l'adjonction de certaines substances qui joueraient le rôle de catalyseurs ou de co-ferments, de stimuler la rapidité de cette synthèse ou de provoquer une augmentation encore plus importante de cette teneur en lipidés.

CHOIX DES CATALYSEURS :

Nous avons repris les produits déjà utilisés par Fiedler et Ludecke parce qu'ils correspondaient bien aux conditions dans lesquelles nous désirions opérer. Nous voulions, en effet, examiner plus particulièrement le comportement de ces macérations en présence :

1° D'un acide fort, c'est-à-dire très dissocié au point de vue ionique. Nous avons donc choisi l'acide sulfurique.

2° En présence d'un acide à faible dissociation ionique et nous avons pris l'acide acétique.

3° Enfin, étant donné que, d'une part, l'ion SO^4 se montre favorable dans de nombreux cas (expériences Nos 46, 50, 61, 57, 37 et 47), que, d'autre part, le magnésium est un des constituants « centraux » de la chlorophylle, celui sur lequel se fixerait CO^2 dans l'hypothèse de Maquenne sur la synthèse des glucides, qu'en outre, sous forme d'oxyde de magnésium il favorise la formation des éléments nucléiniques de la cellule, nous avons voulu savoir ce que donnerait l'association de ces deux ions au point de vue des recherches qui nous occupent. Nous avons donc fixé notre choix sur le sulfate de magnésium.

ACTION DES CATALYSEURS :

a) En présence d'eau

Si, à des mélanges de pulpe d'olives noires et d'eau, nous ajoutons des catalyseurs, après macération de 15 mois en milieu septique, nous obtenons les résultats suivants :

Avec eau et sulfate de magnésium : 57 % d'huile, soit une diminution de 13,6 % (exp. 28) ;

Avec eau et acide acétique : 57,7 % d'huile, soit une diminution de 12,6 % (exp. 29) ;

Avec eau et acide sulfurique : 64,4 % d'huile, soit une diminution de 2,4 % (exp. 33) ;

Avec eau et bicarbonate de sodium : 45,1 % d'huile, soit une diminution de 31,6 % (exp. 30).

Conclusions :

Des chiffres ci-dessus, nous pouvons conclure qu'en l'absence de sucre, tous ces produits, qu'ils soient alcalins, neutres ou acides, provoquent une diminution notable de la teneur en huile. Il est vraisemblable de penser que ces substances mises en contact un temps suffisamment long avec de la pulpe d'olive, provoquent une transformation des corps solubles dans l'éther de pétrole en corps insolubles dans ce solvant, par hydrolyse ou saponification des lipides préexistants.

En présence d'hydrates de carbone et un temps de réaction plus court, cette dégradation n'a pas le temps de se produire, ou est alors compensée par la transformation d'une certaine quantité de sucre en corps gras, car nous verrons plus loin que certains de ces catalyseurs ont une action favorisante dans la lipogénèse.

Nous étudierons tout d'abord l'action du bicarbonate de sodium, produit neutre, puis de l'acide acétique et de l'acide sulfurique, produits acides, et, enfin, du sulfate de magnésium, produit alcalin.

b) En présence d'une solution sucrée

BICARBONATE DE SODIUM :

En milieu septique : Une macération de 6 mois à la température de 20°, de pulpe d'olives vertes dans une solution de glucose à 10 %, nous donne :

Avec du bicarbonate : 69,5 % d'huile, soit une augmentation de 5,3 % (exp. 9).

Alors que, sans ce catalyseur, les autres conditions d'expérience restant inchangées, nous n'obtenons que 66,4 % d'huile en augmentation de 0,6 % seulement (exp. 1).

Après une macération de 2 mois dans du glucose à 0,1 % additionné de bicarbonate, on extrait 75,5 % d'huile en augmentation de 14,4 % (exp. 51).

Alors que, sans ce sel, nous n'avons obtenu que 70,6 %, soit 7 % d'augmentation (exp. 50).

Après 15 mois de contact de pulpe d'olives vertes dans une solution de saccharose à 10 %, nous obtenons :

Sans bicarbonate : 38,8 % d'huile en diminution de 41 % sur la teneur normale (exp. 64).

Avec bicarbonate : 80,5 % d'huile en augmentation de 22 % (exp. 65).

CONCLUSIONS : Des résultats précédents, nous pouvons conclure, qu'en milieu septique, le bicarbonate de sodium favorise nettement l'augmentation de la teneur en huile.

En milieu aseptique : Des olives vertes mises en réaction avec du glucose à 10 % pendant 6 mois, nous donnent :

Sans bicarbonate : 71,4 % d'huile en augmentation de 8,2 % (exp. 5).

Avec bicarbonate : 72,5 % en augmentation de 9,8 % exp. 8).

Avec une solution de saccharose à 10 % à la température de 40° pendant 2 mois, nous obtenons :

Sans bicarbonate : 69,5 % d'huile, en augmentation de 5,3 % (exp. 57).

Avec bicarbonate : 62 % en diminution de 6,1 % (exp. 58).

Donc : En milieu aseptique, ce catalyseur se montre inactif et même nuisible. Il en est de même lorsqu'on utilise des fruits cueillis longtemps après véraison et complètement noirs, et cela, tant en milieu septique qu'en milieu aseptique.

En effet, des olives noires mises à macérer 6 mois en milieu septique à 20° avec du glucose à 10 %, nous donnent :

Sans bicarbonate : 75,2 %, augmentation de 15,5 % (exp. 13).

Avec bicarbonate : 72,7 %, augmentation de 10,2 % seulement (exp. 15).

Dans les mêmes conditions, mais en milieu aseptique, on obtient :

Sans bicarbonate : 79,3 %, augmentation de 20,1 % (exp. 18).

Avec bicarbonate : 50,8 %, diminution de 23 % (exp. 20).

CONCLUSIONS : L'action du bicarbonate de sodium est donc :

Positive, avec des olives vertes, en milieu septique.

Négative, avec des olives vertes, en milieu aseptique et avec des olives noires, en milieu septique et aseptique.

ACIDE ACÉTIQUE :

En utilisant de la pulpe d'olives vertes en suspension dans une solution de glucose à 10 % pendant 6 mois, en milieu septique à 20° :

— Sans adjonction d'acide, on extrait : 66,4 % d'huile, soit une augmentation de 0,6 % (exp. 1).

— Avec cet acide, on en extrait 71,6 %, en augmentation de 8,5 % (exp. 11).

Donc : Action favorable de ce catalyseur en milieu septique.

Si nous opérons, maintenant, en milieu aseptique, les autres conditions d'expériences restant les mêmes, nous obtenons :

Sans cet acide : 71,4 % d'huile, en augmentation de 8,2 % (exp. 5).

Avec cet acide : 58 % seulement, soit une diminution de 12,1 % (exp. 10).

Nous pouvons donc en conclure qu'en milieu aseptique, l'acide acétique a une influence défavorable.

Toujours dans les mêmes conditions et en utilisant les mêmes éléments, mais en se servant de pulpe d'olives noires, nous extrayons, après macération en milieu septique :

Sans cet acide : 76,2 % d'huile, en augmentation de 15,5 % (exp. 13).

Avec cet acide : 72,8 %, en augmentation de 10,4 % seulement (exp. 16).

Et, en milieu aseptique :

Sans cet acide : 79,3 %, en augmentation de 20,1 % (exp. 18).

Avec cet acide : 52,3 %, en diminution de 20,7 % (exp. 22).

Avec des solutions à plus grande dilution (0,1 % de glucose) et une macération de 2 mois à la température de 20°, en milieu septique, des olives noires nous permettent d'obtenir :

Sans cet acide : 64 % d'huile, en diminution de 3,3 % (exp. 24).

Avec cet acide : 53,6 %, en diminution de 18,8 % (exp. 26).

De la pulpe d'olives vertes, en macération pendant 15 mois, dans une solution de glucose à 0,1 %, à la température de 20°, en milieu aseptique, donne :

Sans cet acide : 70,6 % d'huile, en augmentation de 7 % (exp. 50).

Avec cet acide : 69,4 %, en augmentation de 5,1 % seulement (exp. 49).

En utilisant le saccharose à 10 %, la différence est encore plus sensible. Malgré un contact de 2 mois seulement avec de la pulpe d'olives vertes, en milieu aseptique, à la température de 40° :

Sans cet acide, nous obtenons : 69,5 % d'huile, en augmentation de 5,3 % (exp. 57).

Avec cet acide : 24 % d'huile seulement, c'est-à-dire une diminution de 63,6 % (exp. 60).

Après 15 mois de macération en milieu septique, à 20°, de pulpe d'olives vertes dans du saccharose à 10 %, nous n'avons pu obtenir, en présence d'acide, que 33 % d'huile ; l'acide avait donc détruit 50 % des lipides préexistants (exp. 67).

CONCLUSIONS : De cette série d'expériences, il résulte que : tant en milieu septique (à une exception près) qu'en milieu aseptique, l'acide acétique ne permet pas une action lipogène. Les 18 expériences précédentes l'établissent nettement.

En outre, dans 5 cas sur 8, cet acide détruit même l'huile préexistant à l'origine dans la pulpe.

Cette hydrolyse, très nette en milieu aseptique (milieu ayant subi une élévation de température), ne provient pas d'une décomposition chimique des lipides par la chaleur en milieu acide, car :

D'une part, l'acide acétique est un acide faible, mis d'ailleurs en très petite quantité (2 cc d'une solution à 10 %) ; d'autre part, les mêmes expériences effectuées avec les mêmes quantités d'acide sulfurique, acide beaucoup plus fort, que ce soit à froid (milieu septique) ou en milieu ayant subi une élévation de température (stérilisation à 120°), permettent de constater une notable augmentation de la teneur en huile.

REMARQUE : Comme l'avait déjà remarqué Margaillan sur les tissus animaux, il s'agit donc ici, non d'une simple hydrolyse sous l'influence d'un acide, mais bien d'une action particulière et spécifique à cet acide organique sur les lipides végétaux.

ACIDE SULFURIQUE :

Avec de la pulpe d'olives vertes mise à macérer dans une solution de glucose à 0,1 %, additionnée d'acide sulfurique, pendant 2 mois, en milieu aseptique, à la température de 20°, on obtient 82 % d'huile, soit une augmentation de 24,2 % (exp. 46).

Dans les mêmes conditions, mais sans acide, la teneur n'atteint plus que 70,6 %, soit 6,9 % d'augmentation seulement (exp. 50).

Toujours avec les olives vertes, mais avec une solution à faible concentration en glucose (0,1 %) et de l'acide sulfurique, on obtient, après 2 mois de macération, à 20°, en milieu septique, 70 % d'huile, en augmentation de 6,1 % (exp. 47).

Avec des olives vertes, une solution de saccharose à 10 % et de l'acide sulfurique en réaction pendant 2 mois en milieu aseptique à 40°, la teneur en huile est de 71 %, en augmentation de 7,6 % (exp. 61).

Alors que, dans des conditions identiques, mais sans acide, nous n'obtenons que 69,5 %, soit une augmentation de 5,3 % seulement (exp. 57).

CONCLUSIONS : Des expériences précédentes nous pouvons donc conclure que, contrairement à l'acide acétique, l'acide sulfurique, tant en milieu septique qu'en milieu aseptique, a une influence favorable sur l'oléogénèse.

Ceci contribue également à prouver que l'hydrolyse de l'huile préexistante, en milieu acide, même ayant été chauffée, est insignifiante.

L'acide sulfurique se montre donc utile, en particulier avec les concentrations à faible teneur en glucose et avec les di-saccharides.

Nous aurons à nous souvenir de ces observations lorsque nous étudierons le projet de réalisation industrielle.

SULFATE DE MAGNÉSIUM :

Le sulfate de magnésium se montre franchement mauvais dans la plupart des cas ; en effet :

De la pulpe d'olives noires mise à macérer avec ce sel et une solution de glucose à 10 %, à la température de 20°, en milieu

aseptique, pendant 6 mois, ne donne qu'une teneur de 56,6 % d'huile, en diminution de 14,2 % sur la teneur normale (exp. 21).

Alors que, sans sulfate, on obtient 79,3 %, en augmentation de 20,1 % sur la moyenne (exp. 18).

De la pulpe d'olives noires en suspension dans une solution de glucose à 0,1 %, additionnée de sulfate de magnésium, en milieu septique, à la température de 20°, pendant 2 mois, donne 64,6 % d'huile, en diminution de 2,1 % (exp. 27), alors que, dans les mêmes conditions, mais sans sulfate, nous obtenons 64 % d'huile, en diminution de 3,3 % (exp. 24). Ici, le sulfate de magnésium serait sensiblement sans action.

Dans les mêmes conditions, avec adjonction de ce sel, mais à la température de 40°, nous n'obtenons que 58,2 %, soit une diminution de 11,8 % (exp. 34).

Après 15 mois à 20°, cette diminution est encore plus sensible et on n'arrive à extraire que 56,4 % d'huile, en diminution de 14,6 % (exp. 39).

Par contre, avec des olives vertes, une solution de glucose à 0,1 % et du sulfate de magnésium, le tout en macération d'une durée de 2 mois, en milieu aseptique, à 20°, nous avons pu obtenir 73,4 % d'huile, en augmentation de 11,2 % (exp. 48), alors que, dans les mêmes conditions, mais sans sulfate, nous ne pouvons extraire que 70,6 % d'huile, en augmentation de 7 % seulement (exp. 50).

C'est le seul cas où le sulfate de magnésium se montre favorable.

Des olives vertes en macération dans du saccharose à 10 % donnent, avec ce sel, après 15 mois, en milieu aseptique, à 20°, une teneur de 29 %, soit une diminution de 56 % (exp. 66) ; alors que, sans lui, la diminution n'est que de 41 % (exp. 64).

CONCLUSIONS : En raison des résultats négatifs observés dans la quasi-totalité des cas, le sulfate de magnésium est à rejeter comme catalyseur.

Ce sel ne provoque, sans doute, pas lui-même directement, cette action retardatrice de la lipo-synthèse, ni la désintégration de l'huile préexistante dans la pulpe ; il doit agir indirectement en favorisant la prolifération des micro-organismes dont les macérations contenant ce sel, se recouvrent abondamment dès les premiers jours de repos (végétations ne se produisant pas dans les solutions acidifiées).

Conclusions générales :

En observant les tableaux N^{os} 1, 2, 3 et 4, ainsi que le tableau-résumé N^o 5, nous constatons que les substances utilisées aux fins de catalyse sont loin d'avoir toutes une action positive ; en particulier, certains des produits employés par Ludecke et par Fiedler, se révèlent ici inopérants ou même nocifs ; le sulfate de magnésium, par exemple, est absolument à rejeter, tant en milieu septique où il favorise beaucoup la multiplication du *Penicilium*, qu'en milieu aseptique où cependant les spores ont été détruits.

Il en est de même du bicarbonate de sodium qui, dans trois cas, sur les quatre envisagés, a une action retardatrice et même inhibitrice marquée sur l'oléogénèse.

Quant à l'acide sulfurique, il paraît donner de bons résultats avec des solutions de glucose à très faible concentration et avec le saccharose.

Nous remarquons également que les catalyseurs acides se montrent favorables en milieu septique et défavorables en milieu aseptique. Si nous rapprochons cette constatation du fait que les substances acides ont un pouvoir empêchant sur les proliférations micro-organiques (alors que les produits neutres se montrent indifférents et que les alcalins, au contraire, les favorisent), nous en concluons que ces substances agissent, non pas en tant que catalyseurs proprement dit, mais plutôt en qualité d'agent microbicide.

TABEAU N° 1
pour l'étude de l'influence du bicarbonate de sodium

N° Expér.	MATURATION	GLUCIDES	CO ³ HNa	TEMPÉ- RATURE	DURÉE (mois)	STÉRILITÉ DU MILIEU	% HUILE	% AUGMENTATION
8	O. V. »	gluc. 10 %	avec sans	20° »	6 »	asept. »	72,5	9,8
5		» »					71,4	8,2
9	O. V. »	gluc. 10 %	avec sans	20° »	6 »	sept. »	69,5	5,3
1		» »					66,4	0,6
15	O. N. »	gluc. 10 %	avec sans	20° »	6 »	sept. »	72,7	10,2
13		» »					76,2	15,5
20	O. N. »	gluc. 10 %	avec sans	20° »	6 »	asept. »	50,8	— 23
18		» »					79,3	20,1
25	O. N. »	gluc. 0,1 %	avec sans	20° »	2 »	sept. »	63,5	— 3,8
24		» »					64	— 3,3
51	O. V. »	gluc. 0,1 %	avec sans	20° »	2 »	asept. »	75,5	14,4
50		» »					70,6	7
58	O. V. »	sach. 10 %	avec sans	40° »	2 »	asept. »	62	— 6,1
57		» »					69,5	5,3
65	O. V. »	sach. 10 %	avec sans	20° »	15 »	sept. »	80,5	22
64		» »					38,8	— 41

TABLEAU N° 2
pour l'étude de l'influence de l'acide acétique

N ^o Expér.	MATURATION	GLUCIDES	CH ³ COOH	TEMPÉRATURE	DURÉE (mois)	STÉRILITÉ DU MILIEU	% HUILE	% AUGMENT.
10	O. V. »	gluc. 10 % » »	avec sans	20° »	6 »	asept. »	58 71,4	— 12,1 8,2
11	O. V. »	gluc. 10 % » »	avec sans	20° »	6 »	sept. »	71,6 66,4	8,5 0,6
16	O. N. »	gluc. 10 % » »	avec sans	20° »	6 »	sept. »	72,8 76,2	10,4 15,5
22	O. N. »	gluc. 10 % » »	avec sans	20° »	6 »	asept. »	52,3 79,3	— 20,7 20,1
26	O. N. »	gluc. 0,1 % » »	avec sans	20° »	2 »	sept. »	53,6 64	— 18,8 — 3,3
29	O. N. »	eau »	avec sans	20° 40°	15 2	sept. »	57,7 69,5	— 12,6 5,3
49	O. V. »	gluc. 0,1 % » »	avec sans	20° »	2 »	asept. »	69,4 70,6	5,1 7
60	O. V. »	sacch. 10 % » »	avec sans	40° »	2 »	asept. »	24 69,5	— 63,6 5,3
67	O. V. »	sacch. 10 % » »	avec sans	20° »	15 »	sept. »	33 38,8	— 50 — 41

TABEAU N° 3
pour l'étude de l'influence de l'acide sulfurique

N° Expér.	MATURATION	GLUCIDES	SO ⁴ H ²	TEMPÉ- RATURE	DURÉE (mois)	STÉRILITÉ DU MILIEU	% HUILE	% AUGMENTATION
46	O. V.	gluc. 0,1 %	avec	20°	2	asept.	82	24,2
50	»	»	sans	»	»	»	70,6	7
61	O. V.	sacch. 10 %	avec	40°	2	asept.	71	7,6
57	»	»	sans	»	»	»	69,5	5,3
47	O. V.	gluc. 0,1 %	avec	20°	2	sept.	70	6,1
50	»	»	sans	»	»	asept.	70,6	7

TABEAU N° 4
pour l'étude de l'influence du sulfate de magnésium

N° Expér.	MATURATION	GLUCIDES	SO ⁴ Mg	TEMPÉ- RATURE	DURÉE (mois)	STÉRILITÉ DU MILIEU	% HUILE	% AUGMENTATION
21	O. N.	gluc. 10 %	avec	20°	6	asept.	56,6	— 14,2
18	»	»	sans	»	»	»	79,3	20,1
27	O. N.	gluc. 0,1 %	avec	20°	2	sept.	64,6	— 2,1
24	»	»	sans	»	»	»	64	— 3,3
48	O. V.	gluc. 0,1 %	avec	20°	2	asept.	73,4	— 11,2
50	»	»	sans	»	»	»	70,6	7
66	O. V.	sacch. 10 %	avec	20°	15	sept.	29	— 56
64	»	»	sans	»	»	»	38,8	— 41
34	O. N.	gluc. 10 %	avec	40°	2	sept.	58,2	— 11,8
39	O. N.	gluc. 10 %	avec	20°	15	»	56,4	— 14,6

TABLEAU-RESUME N° 5
de l'influence des catalyseurs

$\text{CO}^3 \text{H Na}$	avec O. V.	en milieu septique	: Action	<i>Positive</i>
»	»	» aseptique	: »	Négative
»	O. N.	» septique	: »	Négative
»	»	» aseptique	: »	Négative
$\text{CH}^3 \text{COOH}$	» O. V.	» septique	: »	<i>Positive</i>
»	»	» aseptique	: »	Négative
»	O. N.	» septique	: »	Négative
»	»	» aseptique	: »	Négative
$\text{SO}^4 \text{H}^2$	» O. V.	» aseptique	: »	<i>Positive</i>
»	O. N.	» septique	: »	<i>Positive</i>
$\text{SO}^4 \text{Mg}$	» O. V.	» aseptique	: »	Négative
»	O. N.	» septique	: »	Négative
»	»	» aseptique	: »	Négative

CHAPITRE III

INFLUENCE DE L'ASEPSIE DU MILIEU

Nous avons vu précédemment que l'asepsie du milieu modifie profondément les résultats finaux ; il reste donc à examiner de plus près ces modifications et à essayer d'en dégager les règles de conduite en vue de l'établissement des conditions optima de synthèse.

Dans cette étude, nous examinerons trois cas, suivant la composition du milieu dans lequel s'opère la macération :

- a) En présence d'eau.
- b) En présence d'une solution sucrée.
- c) En présence d'une solution sucrée additionnée d'un catalyseur.

L'étude de ce dernier facteur est primordiale, car les micro-organismes jouent un rôle important dans la décomposition des hydrates de carbone, et, par suite, sont à même de modifier le processus de synthèse à partir de ceux-ci.

L'oléogénèse est, en effet, non seulement fonction de la variété, mais aussi de la concentration du milieu en glucides (voir Chapitre V). Les bactéries et les moisissures, en désintégrant ces derniers, diminuent la concentration des liqueurs et les résultats ne peuvent, de ce fait, avoir la précision voulue. Ils ôtent, en effet, toute valeur à leur interprétation dans l'étude du facteur « concentration en glucides ».

a) En présence d'eau

EN MILIEU ASEPTIQUE :

Dans un premier essai, des olives vertes, après macération à la température de 20°, donnent, au bout de 6 mois, 68,4 % d'huile, en augmentation de 3,6 % (exp. 7).

Dans des conditions identiques, mais avec des olives noires, la teneur est sensiblement la même : 68 %, soit une augmentation de 3 % (exp. 23).

EN MILIEU SEPTIQUE :

Des olives noires, après deux mois de macération à 40°, nous permettent d'extraire 69,5 % d'huile, en augmentation de 5,3 % (exp. 38).

Des olives vertes, après 6 mois, à la température de 20°, nous donnent 68,5 %, en augmentation de 3,7 % (exp. 4).

CONCLUSIONS. — Des expériences qui précèdent, nous pouvons déduire qu'avec de l'eau pure, l'asepsie du milieu n'a que peu d'importance.

Ainsi que nous le verrons plus loin, il n'en est pas de même avec les solutions sucrées.

b) En présence d'une solution sucrée

AVEC DES SOLUTIONS DE GLUCOSE :

a) *En utilisant de la pulpe d'olives vertes :*

En milieu septique, après une macération de 6 mois à la température de 20°, dans une solution de glucose à 5 %, nous n'obtenons que 68,9 % d'huile, en augmentation de 4,5 % (exp. 2).

Dans les mêmes conditions, mais en milieu aseptique, la teneur en huile passe à 70,9 %, en augmentation de 7,4 % (exp. 6.).

En milieu septique, avec une solution de glucose à 10 %, en macération pendant 6 mois, à la température de 20°, la teneur n'est que de 66,4 %, soit une augmentation de 0,6 % (exp. 1).

Dans les mêmes conditions, mais en milieu aseptique, nous obtenons 71,4 % d'huile, en augmentation de 8,2 % (exp. 5).

b) *En utilisant de la pulpe d'olives noires :*

En milieu septique, avec une solution de glucose à 5 %, cette pulpe mise à macérer 6 mois à 20°, ne nous donne que 75 % d'huile, soit une augmentation de 13,6 % (exp. 12).

Tandis qu'en milieu aseptique, on peut en extraire 84,8 %, soit une augmentation de 28,5 % (exp. 19).

Avec une solution à 10 % de glucose et une durée de réaction de 6 mois à la température de 20°, en milieu septique, on n'obtient que 76,2 % d'huile, en augmentation de 15,5 % (exp. 13).

Alors qu'en milieu aseptique on arrive à retirer 79,3 % d'huile, en augmentation de 20,1 % (exp. 18).

Une macération de 2 mois, à la température de 20°, de pulpe d'olives noires, dans une solution de glucose à 0,1 %, ne donne, en milieu septique, que 64 % d'huile, en diminution de 3,3 % sur la teneur normale (exp. 24).

Alors que, avec les mêmes éléments, et dans les mêmes conditions, mais en milieu aseptique, nous obtenons 70,6 %, en augmentation de 7 % (exp. 50).

CONCLUSIONS. — Ces expériences, toutes concluantes, et résumées dans la première partie du tableau N° 7, nous permettent d'affirmer :

Que l'élévation de température que l'on fait subir à ces mélanges de pulpe et de solutions glucosées pour les stériliser, non seulement ne gêne en rien l'élaboration de matières grasses, mais que cette asepsie permet, dans tous les cas, d'obtenir une plus grande quantité d'huile.

AVEC DES SOLUTIONS DE SACCHAROSE :

L'étude de l'influence de l'asepsie dans les macérés contenant ce diholoside va nous permettre de conclure dans le même sens qu'au paragraphe précédent.

En effet :

Des olives vertes mises à macérer 15 mois, à la température de 20°, en milieu septique, avec une solution de saccharose à 5 %, ne nous donnent que 62,7 % d'huile, en diminution de 4,9 % sur la normale (exp. 63).

Alors que des olives au même stade de maturation, en macération dans une solution sucrée de même concentration, pendant 2 mois, mais en milieu aseptique, à 40°, permettent d'obtenir 71,3 % d'huile, en augmentation de 8 % (exp. 56).

Avec une solution de saccharose à 10 %, des olives vertes, mises en réaction 15 mois à la température de 20°, en milieu septique, ne donnent que 38,8 % d'huile, soit une diminution de 41 % (exp. 64).

Tandis qu'avec les mêmes éléments, mais après 2 mois seulement, à 40°, et en milieu aseptique, nous pouvons extraire 69,5 % d'huile, en augmentation de 5,3 % (exp. 57).

CONCLUSIONS. — Ici, également, influence favorable de la stérilisation par la vapeur sous pression.

**c) En présence d'une solution sucrée
additionnée d'un catalyseur**

GLUCOSE ET BICARBONATE DE SODIUM :

Des olives vertes mises à macérer 6 mois à la température de 20°, dans une solution de glucose à 10 % et de bicarbonate de sodium, ne donnent, en milieu septique, que 69,5 % d'huile, en augmentation de 5,3 % (exp. 9), alors qu'en milieu aseptique, nous obtenons 72,5 %, soit une augmentation de 9,8 % (exp. 8).

Après macération de 2 mois à 20°, dans une solution de glucose à 0,1 %, additionnée de bicarbonate, des olives noires ne donnent, en milieu septique, que 63,5 % d'huile, soit une diminution de 3,8 % (exp. 25) ; alors que, avec des olives vertes, en milieu aseptique, les autres conditions d'expérience restant les mêmes, nous arrivons à extraire 75,5 % d'huile, en augmentation de 14,4 % (exp. 51).

D'autre part, après réaction de 2 mois, à la température de 40°, en milieu septique, dans une solution de glucose à 10 %, additionnée de bicarbonate, de la pulpe d'olives noires nous donne une teneur de 66,6 % d'huile, en augmentation de 0,9 % (exp. 35).

Par contre :

Des olives noires dans une solution de glucose à 10 %, additionnée de bicarbonate, donnent, après macération de 6 mois à 20° en milieu septique, 72,7 % d'huile, en augmentation de 10,2 % (exp. 15) ; tandis qu'en milieu aseptique, la teneur n'est plus que de 50,8 %, en diminution de 23 % (exp. 20).

CONCLUSIONS. — Les expériences précédentes ne permettent donc pas de conclure d'une façon absolue. Les olives paraissent se comporter différemment, suivant qu'elles ont été cueillies avant ou après véraison. Cependant, pour les olives vertes tout au moins, l'asepsie du milieu paraît favoriser la synthèse.

GLUCOSE ET ACIDE ACÉTIQUE :

Les essais suivants sont très nets.

En effet :

Après réaction de 6 mois à 20° dans une solution de glucose à 10 %, additionnée d'acide acétique, des olives vertes nous ont donné :

En milieu septique : 71,6 % d'huile, en augmentation de 8,5 % (exp. 11) ; alors qu'en milieu aseptique, la teneur n'est plus que de 58 %, soit une diminution de 12,1 % (exp. 10).

En opérant dans des conditions identiques, et avec les mêmes éléments, mais en utilisant de la pulpe d'olives noires, nous obtenons :

En milieu septique : 72,8 % d'huile, en augmentation de 10,4 % (exp. 16) ; alors qu'en milieu aseptique la teneur n'est plus que de 52,3 % en diminution de 20,7 % (exp. 22).

CONCLUSIONS. — A la suite des expériences ci-dessus, nous concluons très nettement que, lorsqu'on utilise l'acide acétique comme catalyseur, la stérilisation est franchement nuisible.

GLUCOSE ET ACIDE SULFURIQUE :

L'action de la septicité du milieu étant variable avec le temps, nous étudierons tout d'abord la teneur en huile après deux mois de macération, puis après quinze mois, étant entendu que tous ces macérés ont été additionnés d'acide sulfurique à la dose de 10 cc d'une solution à 10 %.

En milieu septique :

1° Après réaction de 2 mois :

Des olives noires dans une solution de glucose à 10 %, à la température de 40°, donnent 68,5 % d'huile, en augmentation de 3,8 % (exp. 37).

Des olives vertes, dans une solution de glucose à 0,1 %, à la température de 20°, nous permettent d'obtenir 70 % d'huile, en augmentation de 6,1 % (exp. 47).

2° Après réaction de 15 mois :

Des olives noires dans une solution de glucose à 10 %, à la température de 20°, ne nous permettent d'extraire que : dans une première expérience 24,7 % d'huile, en diminution de 62,5 % (exp. 32). Dans une deuxième expérience, les conditions et les éléments restant les mêmes, 22 % d'huile, en diminution de 66,1 % (exp. 53).

Cette disparition progressive de l'huile avec le temps, provient vraisemblablement de l'hydrolyse de l'huile par cet acide.

En milieu aseptique :

Après 2 mois de macération, des olives vertes dans une solution de glucose à 0,1 %, à la température de 20°, nous donnent 82 % d'huile, en augmentation de 24,2 % (exp. 46).

CONCLUSIONS. — La stérilisation a donc une influence favorable pour de courtes durées de réaction.

GLUCOSE ET SULFATE DE MAGNÉSIUM :

Avec le sulfate de magnésium, cette étude sera très brève, car lorsqu'on additionne les macérations de ce sel, les résultats sont négatifs, que le milieu soit stérile ou non. Le tableau N° 9 permet d'ailleurs de s'en rendre compte rapidement.

REMARQUE. — Observons cependant que l'expérience N° 48 a été positive. Cela tient à deux raisons :

1° Dans cette préparation, le milieu a été stérilisé, puis laissé en repos un temps relativement court, deux mois seulement.

2° La concentration glucosique était très faible, 0,1 % seulement, par conséquent le milieu peu propre à une prolifération cryptogamique ou bactérienne.

Aucune pollution appréciable n'a donc eu le temps de se produire ; en outre, cette solution ne se prêtait pas, en raison de sa pauvreté en glucides, à un développement microbien intense, par conséquent, la synthèse des lipides a pu s'y poursuivre normalement, tout comme dans l'expérience analogue N° 50.

Au contraire, dans les autres macérations, en raison de leur teneur beaucoup plus élevée en sucre ; en raison également du fait que les premières préparations étaient septiques et que les autres, quoique stérilisées à l'origine, étant restées un très long temps au repos (6 à 15 mois), ont pu être polluées malgré la fermeture des fioles par un tampon de coton ; le développement bactérien a pu s'y effectuer avec une intensité et une rapidité d'autant plus accrue que la présence de sulfate de magnésium favorisait cette prolifération.

Il y a donc eu dans ces expériences, à l'exception du N° 48, non seulement dégradation de la presque totalité des sucres, mais également d'une certaine quantité des lipides préexistants.

SACCHAROSE ET BICARBONATE DE SODIUM :

En mettant à macérer des olives noires dans une solution de saccharose à 10 %, additionnée de bicarbonate de sodium, nous obtenons :

a) Après 2 mois, à la température de 40°, en milieu aseptique, 62 % d'huile, en diminution de 6,1 % (exp. 58).

b) Après 15 mois, à la température de 20°, en milieu aseptique, 80,5 % d'huile, en augmentation de 22 % (exp. 65).

CONCLUSIONS. — Avec le saccharose, et contrairement à ce que nous avons trouvé pour le glucose, il est donc préférable que le milieu ne soit pas stérilisé.

SACCHAROSE ET ACIDE ACÉTIQUE :

Dans les mêmes conditions que plus haut, mais en utilisant de l'acide acétique au lieu de bicarbonate, des olives vertes ne donnent, après 2 mois de réaction à la température de 40°, que 24 % d'huile, soit une diminution de 63,6 % (exp. 60).

Après 15 mois à 20°, en milieu septique, la teneur en huile est toujours inférieure à la normale, et n'atteint que 33 %, en diminution de 50 % (exp. 67).

Cette diminution, dans les deux cas, provient de l'action néfaste spécifique à l'acide acétique et non pas de l'asepsie du milieu, ainsi que nous l'avons vu précédemment au Chapitre II.

SACCHAROSE ET ACIDE SULFURIQUE :

En milieu aseptique, des olives vertes, mises en réaction avec une solution de saccharose à 10 % et d'acide sulfurique, pendant 2 mois, à la température de 40°, nous permettent d'obtenir 71 % d'huile, en augmentation de 7,6 % sur la teneur normale (exp. 61).

Alors qu'en milieu septique, nous ne pouvons extraire, après 15 mois, à 20°, que 6,4 % d'huile, soit une diminution de 90,5 % (exp. 68).

CONCLUSIONS. — Ici encore, l'acide sulfurique ayant dû hydrolyser l'huile préexistante, l'action de l'asepsie est difficile à observer.

Il est à remarquer que cette décomposition s'est produite dans la macération n'ayant subi aucune élévation de température. Dans le milieu porté à 120°, au contraire, cette hydrolyse ne s'est pas produite, ou a été insignifiante, puisque nous avons, en fin d'expérience, pu récupérer 7,6 % d'huile en plus de la quantité existant à l'origine.

SACCHAROSE ET SULFATE DE MAGNÉSIUM :

Ce catalyseur s'étant montré défavorable dans tous les cas, nous l'avons abandonné.

Conclusions générales :

Reprenons maintenant les conclusions émises à la suite de chaque série d'expériences dans ce chapitre et voyons quelles règles on

en peut tirer, en tenant compte des quelques exceptions qui sont d'ailleurs plus apparentes que réelles.

Avec de l'eau : stérilisation indifférente ;

Avec une solution de glucose : stérilisation favorable ;

Avec une solution de saccharose : stérilisation favorable ;

Avec une solution de glucose :

Additionnée de CO^3HNa : (conclusions peu nettes) ;

Additionnée de CH^3COOH : stérilisation défavorable ;

Additionnée de SO^4H^2 : stérilisation favorable ;

Avec une solution de saccharose :

Additionnée de CO^3HNa : stérilisation défavorable ;

Additionnée de CH^3COOH : stérilisation défavorable ;

Additionnée de SO^4H^2 : stérilisation favorable.

Voyons d'abord les exceptions :

Nous constatons en premier lieu que l'adjonction d'acide acétique paraît provoquer un renversement de la règle, puisque, contrairement à la généralité des cas, la stérilisation se montre ici néfaste.

Mais si nous examinons tous les essais effectués avec cet acide depuis le début de ce travail, nous constatons que, quelles que soient les conditions, celui-ci a une action nuisible sur la lipogénèse ; donc, ici comme au Chapitre II, cette lipolyse est due à la présence de l'acide acétique qui possède, ainsi que nous l'avons déjà signalé, une action particulière. Par conséquent, nous n'avons pas à tenir compte, dans le cas qui nous occupe actuellement, de ces résultats anormaux dans lesquels l'asepsie ne joue aucun rôle.

Il en est de même pour les résultats observés avec les solutions de glucose et de saccharose additionnées de bicarbonate de sodium et pour lesquelles une conclusion s'avère difficile à formuler, puisque elle varie avec le degré de maturation des fruits.

La présence de substances étrangères, dans ces macérations, peut donc changer entièrement l'allure des phénomènes. On ne doit par conséquent interpréter ces résultats qu'avec circonspection.

Dans tous les autres cas, et plus particulièrement avec des solutions pures de glucose et de saccharose, la stérilisation, et par là

l'asepsie du milieu, a une influence nettement favorable sur l'oléosynthèse.

REMARQUE. — Puisque l'élévation de température que l'on a fait subir à ces macérations et par conséquent aux ferments inclus dans les cellules de la pulpe d'olive, se montre nettement favorisante, nous pouvons en conclure que nous n'avons pas affaire ici à des ferments thermolabiles.

Le remarquable travail de R. David concernant l'*influence des températures élevées sur la vitalité des graines oléagineuses*, nous montre bien d'ailleurs que — in situ — les enzymes en général, et les lipases en particulier, peuvent parfaitement supporter des températures élevées sans, pour cela, voir altérer trop sensiblement leurs propriétés diastasiques.

White, en 1909, et Théodoresco (1), en 1914, l'ont également démontré, et pour des températures bien supérieures à celles que nous avons utilisées ici aux fins de stérilisation. Ces auteurs faisaient, il est vrai, allusion à des graines desséchées. Si nous avons employé des ferments purifiés (déprotéinés et délipidés), puis mis en solution aqueuse, il est vraisemblable que nous n'aurions pas obtenu les mêmes résultats ; mais nous nous sommes servi d'enzymes bruts, encore inclus dans leur protoplasma originaire et, de ce fait, leur comportement vis-à-vis de la chaleur s'en est trouvé modifié.

H. Colin (2) admet d'ailleurs que, en suspension dans l'huile, la lipase supporte bien la température de 100° et n'est anéantie que vers 150°, ce qui est bien notre cas, puisque nous avons laissé ce ferment en suspension dans les inclusions huileuses des cellules pulpaire.

Même en admettant que l'élévation de température ait provoqué un léger amoindrissement des propriétés diastasiques, il n'en est pas moins vrai que la résultante des facteurs lipolytiques d'une part, et des facteurs lipogénétiques d'autre part, joue en faveur de ces derniers, puisque nous obtenons, en fin d'expérience, une augmentation de la teneur en lipides.

(1) E. C. THÉODORESCO. — Température mortelle pour quelques diastases d'origine animale et végétale. *R. G. de Bot.*, t. 25^{me} 1914.

(2) H. COLIN. — Les Diastases, I. G. Doin, Edit., Paris 1931.

TABLEAU N° 6
pour l'étude de l'influence de l'asepsie du milieu

a) EN PRESENCE D'EAU

N° Expér.	MATURATION	TEMPÉ- RATURE	DURÉE (mois)	% HUILE	% AUGMENTATION
En milieu septique					
38	O. N.	40°	2	69,5	5,3
4	O. V.	20°	6	68,5	3,8
En milieu aseptique					
7	O. V.	20°	6	68,4	3,6
23	O. N.	»	»	68	3

TABEAU N° 7
Pour l'étude de l'influence de l'asepsie du milieu
b) EN PRESENCE D'UNE SOLUTION SUCREE

N° Expér.	MATURATION	GLUCIDES	TEMPÉ- RATURE	DURÉE (mois)	STÉRILITÉ DU MILIEU	% HUILE	% AUGMENTATION
Cas de glucose							
2	O. V.	gluc. 5 %	20°	6	septique	68,9	4,5
6	»	»	»	»	aseptique	70,9	7,4
1	O. V.	gluc. 10 %	20°	6	septique	66,4	0,6
5	»	»	»	»	aseptique	71,4	8,2
12	O. N.	gluc. 5 %	20°	6	septique	75	13,6
19	»	»	»	»	aseptique	84,8	28,5
13	O. N.	gluc. 10 %	20°	6	septique	76,2	15,5
18	»	»	»	»	aseptique	79,3	20,1
24	O. N.	gluc. 0,1 %	20°	2	septique	64	— 3,3
50	O. V.	»	»	»	aseptique	70,6	7
Cas du saccharose							
63	O. V.	sacch. 5 %	20°	15	septique	62,7	— 4,9
56	»	»	40°	2	aseptique	71,3	8
64	O. V.	sacch. 10 %	20°	15	septique	38,8	— 41
57	»	»	40°	2	aseptique	69,5	5,3

TABEAU N° 8
pour l'étude de l'influence de l'asepsie du milieu

N° Expér.	MATURATION	GLUCIDES	CATALYSEUR	TEMPÉ- RATURE	DURÉE (mois)	STÉRILITÉ DU MILIEU	% HUILE	% AUGMENTATION
Glucose et bicarbonate de sodium								
8	O. V.	gluc. 10 %	CO ³ HNa	20°	6	aseptique	72,5	9,8
9	»	»	»	»	»	septique	69,5	5,3
25	O. N.	gluc. 0,1 %	CO ³ HNa	20°	2	septique	63,5	— 3,8
51	O. V.	»	»	»	»	aseptique	75,5	14,4
35	O. N.	gluc. 10 %	CO ³ HNa	40°	2	septique	66,6	0,9
15	O. N.	gluc. 10 %	CO ³ HNa	20°	6	septique	72,7	10,2
20	»	»	»	»	»	aseptique	50,8	— 23
Glucose et acide acétique								
11	O. V.	gluc. 10 %	CH ³ COOH	20°	6	septique	71,6	8,5
10	»	»	»	»	»	aseptique	58	— 12,1
16	O. N.	gluc. 10 %	CH ³ COOH	20°	6	septique	72,8	10,4
22	»	»	»	»	»	aseptique	52,3	— 20,7

TABLEAU N° 9
pour l'étude de l'influence de l'asepsie du milieu

N° EXPÉR.	MATURATION	GLUCIDES	CATALYSEUR	TEMPÉ- RATURE	DURÉE (mois)	STÉRILITÉ DU MILIEU	% HUILE	% AUGMENTATION
Glucose et Acide Sulfurique								
37	O. N.	gluc. 10 %	SO ⁴ H ²	40°	2	septique	68,5	3,8
32	O. N.	gluc. 10 %	»	20°	15	»	24,7	— 62,5
53	»	»	»	»	»	»	22	— 66,6
46	O. V.	gluc. 0,1 %	SO ⁴ H ²	20°	2	aseptique	82	24,2
47	»	»	»	»	»	septique	70	6,1
Glucose et Sulfate de Magnésium								
27	O. N.	gluc. 0,1 %	SO ⁴ Mg	20°	2	septique	64,6	— 2,1
34	»	gluc. 10 %	»	40°	»	»	58,2	— 11,8
39	»	»	»	20°	15	»	56,4	— 14,6
40	»	»	»	»	»	»	32,7	— 50,4
48	O. V.	gluc. 0,1 %	SO ⁴ Mg	20°	2	aseptique	73,4	11,2
21	O. N.	gluc. 10 %	»	»	6	»	56,6	— 14,2
54	»	gluc. 50 %	»	»	15	»	36,6	— 44,5

TABEAU N° 10
pour l'étude de l'influence de l'asepsie du milieu

N° EXPÉR.	MATURATION	GLUCIDES	CATALYSEUR	TEMPÉRATURE	DURÉE (mois)	STÉRILITÉ DU MILIEU	% HUILE	% AUGMENT.
Saccharose et Bicarbonate de Sodium								
58	O. V.	Sacch. 10 %	CO^3HNa	40°	2	aseptique	62	— 6,1
65	»	»	»	20°	15	septique	80,5	22
Saccharose et Acide Acétique								
60	O. V.	Sacch. 10 %	CH^3COOH	40°	2	aseptique	24	— 63,6
67	»	»	»	20°	15	septique	33	— 50
Saccharose et Acide Sulfurique								
61	O. V.	Sacch. 10 %	SO^4H^2	40°	2	aseptique	71	7,6
68	»	»	»	20°	15	septique	6,4	— 90,5

CHAPITRE IV

INFLUENCE DE LA MATURATION DES OLIVES

Dans ce chapitre, nous ne parlerons pas des olives cueillies pendant leur véraison, en raison des résultats obtenus qui diffèrent très sensiblement de ceux que nous allons examiner et qui demandent une étude spéciale.

Ce cas particulier fera donc plus loin, l'objet d'une nouvelle étude (voir deuxième partie : Cas des olives cueillies pendant leur véraison).

CONDITIONS DE CUEILLETTE :

Dans une première série d'expériences, nous avons utilisé des olives vertes (O. V.). Ce sont des fruits qui sont déjà arrivés à complet développement, mais cueillis deux semaines environ avant leur véraison. Ils sont donc complètement verts, quoiqu'entièrement formés.

Dans une deuxième série d'expériences, nous appellerons olives noires (O. N.) des fruits cueillis deux semaines environ après leur véraison, donc entièrement noirs mais non encore flétris.

TENEUR EN HUILE :

Nous rappelons (voir : Méthode d'expérimentation, paragraphe VI : Teneur en huile à l'origine) que, lorsqu'on rapporte la teneur en huile au poids de la pulpe sèche « lavée », ce taux reste le même, quel que soit le degré de maturité et atteint 66 % du poids de matière sèche lavée.

CONDITIONS D'EXPÉRIENCES :

Toutes les expériences qui suivent ont été effectuées dans les mêmes conditions de temps et de température ; les macérations

ont duré 6 mois à la température de 20°. Nous ne rappellerons donc pas, chaque fois, ces conditions.

a) En présence d'eau

En macération dans l'eau, en milieu aseptique : de la pulpe d'olives vertes nous a donné 68,4 % d'huile (exp. 7), alors qu'avec des olives noires, nous obtenons, dans les mêmes conditions, 68 % (exp. 23).

Pour les olives vertes, cette augmentation atteint 3,6 %, alors que pour les olives noires, elle est de 3 %. La différence 0,6 % est négligeable.

CONCLUSIONS. — Avec de l'eau pure, l'oléogénèse est donc insignifiante et sensiblement la même, que les fruits soient verts ou noirs.

b) En présence d'une solution sucrée

AVEC UNE SOLUTION DE GLUCOSE A 5 % :

Avec du glucose à 5 %, en milieu septique, des olives vertes ne nous permettent d'obtenir que 68,9 % d'huile, en augmentation de 4,5 % (exp. 2), tandis qu'avec des olives noires, la teneur atteint 75 %, soit une augmentation de 13,6 % (exp. 12).

Si le milieu est aseptique, des olives vertes ne nous donnent, dans les mêmes conditions, que 70,9 % d'huile, en augmentation de 7,4 % (exp. 6) et des olives noires 84,8 % en augmentation de 24,5 % (exp. 19).

CONCLUSIONS. — Nous voyons qu'avec une solution de glucose, il y a supériorité très nette des fruits noirs sur les fruits verts et cela, quelle que soit la stérilité du milieu.

AVEC UNE SOLUTION DE GLUCOSE A 10 % :

Avec du glucose à 10 %, en milieu septique, des olives vertes ne nous donnent que 66,4% d'huile, en augmentation de 0,6% (exp. 1), tandis qu'avec des olives noires, nous arrivons à extraire 76,2 % d'huile. L'augmentation est alors de 15, 5 % (exp. 13).

Dans les mêmes conditions que précédemment, mais en milieu aseptique, des olives vertes ne nous permettent d'extraire que 71,4% d'huile, en augmentation de 8,2 % (exp. 5), alors qu'avec des olives

noires, nous atteignons 79,3 %, en augmentation de 20,1 % (exp. 18).

CONCLUSIONS. — Ici également, la teneur en huile des macérations préparées avec des fruits noirs, est nettement plus élevée que celles qui l'ont été avec des fruits verts.

AVEC UNE SOLUTION DE GLUCOSE A 20 % :

Si l'on emploie du glucose à 20 %, en milieu septique, il y a diminution de 11,3 % (58,5 % d'huile seulement) (exp. 3) avec des olives vertes ; alors qu'avec des olives noires, nous constatons, au contraire, une augmentation de 4,5 % (69 % d'huile) (exp. 14).

CONCLUSIONS. — Une fois de plus, ce sont les fruits noirs qui nous donnent les meilleurs résultats.

c) En présence d'une solution sucrée additionnée d'un catalyseur

AVEC UNE SOLUTION DE GLUCOSE A 10 %, ADDITIONNÉE DE BICARBONATE DE SODIUM :

En milieu septique, nous n'obtenons que 69,5 % d'huile, soit une augmentation de 5,3 % (exp. 9), avec des olives vertes. Alors qu'avec des olives noires, la teneur atteint 72,7 %, en augmentation de 10,2 % (exp. 15).

Lorsque le milieu est aseptique, on extrait 72,5 % d'huile (augmentation de 9,8 % (exp. 8), avec des olives vertes, et 50,8 % d'huile seulement, en diminution de 23 % (exp. 20), avec des olives noires.

CONCLUSIONS. — Le cas précédent est le seul où les fruits noirs ont une action moins favorable que les fruits verts ; encore, n'est-ce qu'en milieu aseptique et associé à une substance étrangère (bicarbonate) susceptible de modifier profondément les résultats.

AVEC UNE SOLUTION DE GLUCOSE A 10 %, ADDITIONNÉE D'ACIDE ACÉTIQUE :

Avec ces éléments, et des olives vertes, nous obtenons, en milieu septique, 71,6 % d'huile, en augmentation de 8,5 % (exp. 11), alors qu'avec des olives noires, la teneur passe à 72,8 %, en augmentation de 10,4 % (exp. 10).

CONCLUSIONS. — Il y a donc, cette fois encore, supériorité des olives noires sur les olives vertes.

Conclusions générales :

Des résultats obtenus dans les 18 expériences précédentes, nous pouvons conclure que l'action lipogénétique des olives noires est nettement supérieure à celle des olives vertes, et cela, dans la quasi-totalité des cas envisagés.

Ceci était d'ailleurs à prévoir puisque, au fur et à mesure que la maturation s'avance, cette activité doit normalement devenir de plus en plus intense, et passer, comme nous le verrons plus loin, par un maximum au moment de la véraison.

TABLEAU N° 11
pour l'étude de l'influence de maturation des olives

Durée de macération : 6 mois — Température : 20°

I. Eau, milieu aseptique	{	O. V. 68,4 %	augm.	3,6 (exp. 7)
		O. N. 68 %	»	3 (exp. 23)
II. GLUCOSE à 5 % ..	{ milieu septique.	O. V. 68,9 %	augm.	4,5 (exp. 2)
		O. N. 75 %	»	13,6 (exp. 12)
	{ » aseptique.	O. V. 70,9 %	»	7,4 (exp. 6)
		O. N. 84,8 %	»	28,5 (exp. 19)
III. GLUCOSE à 10 % ..	{ milieu septique.	O. V. 66,4 %	augm.	0,6 (exp. 1)
		O. N. 76,2 %	»	15,5 (exp. 13)
	{ » aseptique.	O. V. 71,4 %	»	8,2 (exp. 5)
		O. N. 79,3 %	»	20,1 (exp. 18)
IV. GLUCOSE à 20 %, milieu septique	{	O. V. 58,5 %	dimin.	11,3 (exp. 3)
		O. N. 69 %	augm.	4,5 (exp. 14)
V. GLUCOSE 10 % et CO ³ HNa	{ milieu septique.	O. V. 69,5 %	augm.	5,3 (exp. 9)
		O. N. 72,7 %	»	10,2 (exp. 15)
	{ » aseptique.	O. V. 72,5 %	»	9,8 (exp. 8)
		O. N. 50,8 %	dimin.	23 (exp. 20)
VI. GLUCOSE 10 % et CH ³ COOH, milieu septique	{	O. V. 71,6 %	augm.	8,5 (exp. 11)
		O. N. 72,8 %	»	10,4 (exp. 16)

CHAPITRE V

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN GLUCIDES

Pour la préparation de toutes ces macérations, nous avons utilisé un volume uniforme de solution : 50 cc. La quantité totale de sucre contenue dans le ballon est donc proportionnelle à la concentration.

La température, pendant toute la durée de macération, a été, dans tous les cas, de 20°.

Nous avons fait quatre séries d'essais avec des solutions de concentrations croissantes.

a) Glucose

1° AVEC UNE SOLUTION A 0,1 % :

Durée des macérations : 2 mois.

En milieu septique, des olives noires ne nous donnent que 64 % d'huile, en diminution de 3,3 % sur la teneur normale (exp. 24), alors qu'en milieu aseptique et avec des olives vertes, la teneur passe à 70,6 %, en augmentation de 7 % (exp. 50).

La moyenne de ces deux résultats est donc de 1,8 %.

2° AVEC UNE SOLUTION A 5 % :

Durée des macérations : 6 mois.

Si nous considérons le tableau N° 12, nous voyons que :

Dans chacun des cas examinés, nous obtenons une augmentation de la teneur en huile. Augmentation qui croît régulièrement de 4,5 % à 28,5 %. La moyenne de ces essais atteignant 13,5 %.

3° AVEC UNE SOLUTION A 10 % :

Nous obtenons ici des résultats comparables à ceux qui ont été trouvés pour les macérations à 5 %, mais sensiblement plus faibles. L'augmentation croît également d'une façon régulière, mais de 0,6 % à 20,1 % seulement. La moyenne de ces essais étant de 11,1 %.

4° COMPARAISON ENTRE LES RÉSULTATS OBTENUS AVEC DES SOLUTIONS A 5 % ET A 10 %.

Si nous comparons maintenant chacune des expériences du paragraphe N° 3, avec l'expérience correspondante du paragraphe N° 2, nous constatons que, dans 3 cas sur 4, il y a supériorité très nette pour la concentration à 5 %. En effet :

a) Des olives vertes, en macération 6 mois, à la température de 20°, en milieu septique, nous donnent : avec une solution à 5 %, une teneur de 68,9 % d'huile, en augmentation de 4,5 % (exp. 2), alors qu'avec une solution à 10 % et dans les mêmes conditions, la teneur n'est plus que de 66,4 %, en augmentation de 0,6 % seulement (exp. 1), soit une différence de 3,9 % en faveur de la concentration la plus faible.

a') Dans les mêmes conditions, mais en milieu aseptique, avec une solution à 5 %, la teneur est de 70,9 %, en augmentation de 7,4 % (exp. 6). Avec une solution à 10 % elle atteint 71,4 %, en augmentation de 8,2 % (exp. 5). C'est là le seul cas où la concentration à 10 % se montre légèrement plus favorable que la concentration à 5 % (1,25 % en plus).

b) Des olives noires, en macération 6 mois, à la température de 20°, en milieu septique, nous donnent : avec une solution à 5 %, une teneur de 76,2 %, en augmentation de 15,4 % (exp. 13), tandis qu'avec une solution à 10 %, on n'obtient que 75 % d'huile, en augmentation de 13,6 % seulement (exp. 12). La différence de 1,9 % est encore en faveur de la concentration la plus faible.

b') En milieu aseptique, les autres conditions restant les mêmes, cette différence est beaucoup plus sensible. L'augmentation atteint 28,5 % (exp. 19) avec la solution à 5 % et 20,1 % seulement avec la solution à 10 % (exp. 18). La différence 8,4 % est toujours en faveur de la plus faible concentration.

5° AVEC UNE SOLUTION A 20 % :

Le tableau N° 12 nous permet de remarquer que cette concentration donne franchement de mauvais résultats. Dans 3 cas sur 4,

nous avons constaté, après macération, une diminution de la teneur en huile.

6° COMPARAISON ENTRE LES RÉSULTATS OBTENUS AVEC DES SOLUTIONS A 5 % ET A 20 %.

Après six mois de réaction, dans une solution à 20 % et en milieu septique, des olives vertes ne nous donnent que 58,5 % de matière grasse, en diminution de 11,3 % (exp. 3), alors que, dans les expériences correspondantes, préparées avec des solutions à 5 %, nous obtenions 68,9 % en augmentation de 4,5 % (exp. 2).

Dans les mêmes conditions, des olives noires ne nous permettent d'extraire que 69 %, en augmentation de 4,5 % seulement, avec une solution à 20 %, tandis qu'avec une concentration à 5 % nous obtenions 75 % d'huile, en augmentation de 13,6 % (exp. 12).

Toujours dans les mêmes conditions que précédemment, mais après 15 mois de réaction, la disparition de l'huile pré-existante est encore plus importante lorsqu'on emploie la solution à 20°, et atteint : avec des olives vertes, 66 % de diminution (exp. 42) et avec des olives noires, 94,5 % de diminution (exp. 43). Ici, l'huile a été presque complètement hydrolysée.

Des résultats précédents, il ressort nettement que la concentration à 20° ne convient pas.

CONCLUSIONS. — La concentration de la liqueur sucrée a donc une importance capitale dans la lipogénèse et son action croît avec la teneur en sucre, du taux de 0,1 % à celui de 5 %, pour décroître ensuite lorsque ce taux continue à croître de 10 à 20 %. L'optimum se situant entre 5 et 10 %.

b) Saccharose

Le saccharose paraît donner de moins bons résultats que le glucose aux concentrations utilisées (5 et 10 %).

L'infériorité de ceux-ci pourrait dépendre de la nécessité du dédoublement préalable de ce disaccharide en sucres en C⁶ (glucose et lévulose), ce qui retarderait l'action lipogène.

En ce qui concerne l'influence de la concentration, nous observons que :

AVEC UNE SOLUTION A 5 % :

Des olives vertes, en macération à la température de 40°, pendant 2 mois, en milieu septique, nous permettent d'obtenir 71,3 %

d'huile, en augmentation de 8 % (exp. 56) et à 20°, pendant 15 mois, toujours en milieu septique, avec des fruits verts également, on obtient 62,7 % en diminution de 4,9 % (exp. 63).

Avec une solution à 10 % :

Des olives vertes ne donnent, après 2 mois de réaction à la température de 40°, en milieu aseptique, que 69,5 % d'huile, en augmentation de 5,3 % seulement (exp. 57), donc :

Ici également, les solutions à 10 % ont une influence moins favorable que les solutions à 5 %.

Avec des fruits verts, après 15 mois de macération, à la température de 20°, en milieu septique, nous constatons une diminution de 41 % (teneur : 38,8 % de matière grasse, exp. 64).

Diminution bien supérieure à celle que nous avons observée avec les solutions à 5 %.

CONCLUSIONS. — Avec le saccharose, la concentration à 5 % nous donne donc de meilleurs résultats que la concentration à 10 %. Comme pour la glucose, l'optimum est, ici aussi, situé entre 5 et 10 %.

Remarque :

Ce fait est à rapprocher et à mettre en parallèle avec les observations suivantes :

Pizon signale que les sucres précéderaient la formation de l'amidon mais qu'ils ne paraissent se transformer en ce dernier produit *que lorsqu'ils ont atteint un certain degré de concentration* ; tant que celui-ci n'est pas atteint, ils persistent en dissolution sans formation d'amidon.

Winckler, dans ses expériences sur l'amylogénèse artificielle par absorption de solution sucrée dans les tissus végétaux, a constaté que la concentration de cette liqueur joue un grand rôle dans l'intensité de cette synthèse et en a même déterminé les taux ; l'apparition des premières traces d'amidon ayant lieu pour une concentration minimum en sucre de 0,2 %, l'optimum pour une concentration de 10 % et le maximum, c'est-à-dire la limite supérieure au delà de laquelle ne se produit plus la condensation, pour le taux de 30 %.

Belin à son tour, dans ses études sur les thallophytes a constaté que la culture de ceux-ci, sur milieu gelosé, donne lieu à l'élaboration d'une certaine quantité de glycerides et que celle-ci *est fonction de la concentration de la liqueur sucrée*.

Nous avons donc ici un phénomène du même ordre et, sans doute régi par les mêmes lois biologiques. Tout comme pour la synthèse de l'amidon aux dépens du glucose, nous nous trouvons en présence d'un optimum de concentration dans la formation *in vitro* de lipides à partir de glucides.

Les résultats que nous avons trouvés pour l'oléogénèse variant dans des limites du même ordre de grandeur que celle de l'amylogénèse, nous les avons comparés dans le tableau suivant :

	CONCENTRATION DE LA LIQUEUR SUCRÉE EN %		
	Minimum	Optimum	Maximum
Amylogénèse	0,2	10	30
Oléogénèse	0,1	5	20

La représentation graphique n° 1 illustre bien cette variation de la liposynthèse en fonction de la concentration en sucre et permet de retrouver l'allure générale des courbes représentatives d'un grand nombre de phénomènes biochimiques.

REPRESENTATION GRAPHIQUE N° I

Cas des olives vertes et noires

Influence de la concentration en glucides

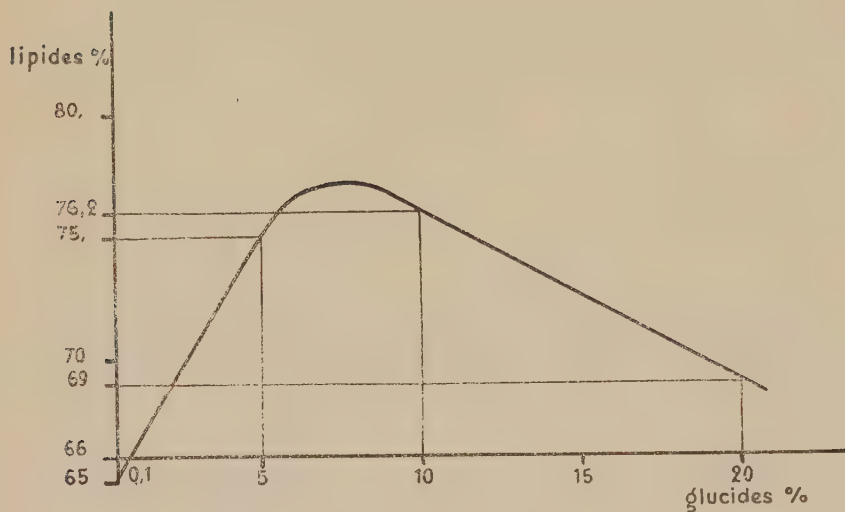


TABLEAU N° 12

Pour l'étude de l'influence de la concentration en glucides

Toutes ces expériences ont été effectuées à la température de 20°.

N° EXP.	MATU- RATION	DURÉE (mois)	STÉRILITÉ DU MILIEU	% HUILE	% AUGMEN- TATION	% MOYENNE
Glucose à 0,1 %						
24	O. N.	2	septique	64	— 3,3	1,8
50	O. V.	»	aseptique	70,6	7	
Glucose à 5 %						
2	O. V.	6	septique	68,9	4,5	13,5
6	»	»	aseptique	70,9	7,4	
12	O. N.	»	septique	75	13,6	
19	»	»	aseptique	84,8	28,5	
Glucose à 10 %						
1	O. V.	6	septique	66,4	0,6	11,1
5	»	»	aseptique	71,4	8,2	
13	O. N.	»	septique	76,2	15,5	
18	»	»	aseptique	79,3	20,1	
Glucose à 20 %						
3	O. V.	6	septique	58,5	— 11,3	— 41,8
42	»	15	»	22,4	— 66	
14	O. N.	6	»	69	4,2	
43	»	15	»	3,6	— 94,5	

TABEAU N° 13

Pour l'étude de l'influence de la concentration en glucides

N° EXP.	MATU- RATION	TEMPÉ- RATURE	DURÉE (mois)	STÉRILITÉ DU MILIEU	% HUILE	% AUGMEN- TATION	% MOYENNE
Saccharose à 5 %							
56 ..	O. V.	40°	2	asept.	71,3	8	1,5
63 ..	»	20°	15	sept.	62,7	— 4,9	
Saccharose à 10 %							
57 ..	O. V.	40°	2	asept.	69,5	5,3	— 17,8
64 ..	»	20°	15	sept.	38,8	— 41	

DEUXIEME PARTIE

CAS DES OLIVES CUEILLIES PENDANT LEUR VERAISON

L'étude de ce cas particulier s'avérait, à priori, importante, en raison même des transformations internes que doivent subir les fruits arrivés à ce stade critique de maturation.

Si nous reprenons les mêmes séries d'expériences, mais que nous les préparions, non plus avec des olives vertes ou des olives noires, mais avec des fruits cueillis pendant leur véraison, c'est-à-dire au moment même de leur passage de la première catégorie dans la seconde et que nous les stabilisions immédiatement à ce stade de maturation par la vapeur d'eau sous pression (faute de quoi ils continueraient à noircir) nous constatons que, en règle générale, les résultats sont de même ordre que précédemment ; néanmoins, dans bien des cas, ceux-ci se révèlent supérieurs à ceux que nous obtenions avec les fruits verts ou avec les fruits noirs.

Les hostilités 1939-1940 ne nous ont pas permis d'effectuer des recherches aussi approfondies que nous l'aurions désiré, en particulier pour ce qui concerne le facteur « durée », lequel, par la force des choses, a dû être fixé à 15 mois. Il en est de même du facteur « température », difficile à faire varier en raison même de la longueur des macérations. Cette température a donc été fixée aux limites de variations de l'ambiance du laboratoire, soit 18-20°.

Par la suite, il sera donc implicitement entendu que toutes les expériences auront duré 15 mois à la température de 20° C.

CHAPITRE PREMIER

ETUDE COMPARATIVE DE L'ACTION DE L'EAU ET DES SOLUTIONS SUCREES

a) En milieu septique

Avec de l'eau et dans les conditions précitées, ces fruits ne nous ont donné qu'une teneur de 64,7 % en huile, en diminution de 2 % sur la teneur normale (exp. 94).

Tandis qu'avec une solution de glucose à 10 %, nous avons pu extraire, dans les mêmes conditions, 68,5 % de matière grasse, en augmentation de 3,8 % (exp. 87).

b) En milieu aseptique

Avec de l'eau pure, nous n'obtenons que 64 % d'huile, soit une diminution de 3 % (exp. 85) ; tandis qu'avec une solution de glucose à 10 %, cette teneur est portée à 71,2 %, en augmentation de 7,9 % (exp. 80).

CONCLUSIONS : Nous voyons donc que, comme avec les olives vertes et avec les olives noires, il est nécessaire d'incorporer au macéré une certaine quantité de glucose pour obtenir une augmentation de la teneur en lipides.

CHAPITRE II

INFLUENCE DES CATALYSEURS

Dans le cas particulier qui nous occupe, les catalyseurs déjà utilisés aux chapitres précédents, paraissent se montrer un peu plus actifs.

Comme dans leur étude à l'aide d'olives vertes ou d'olives noires, nous les examinerons à tour de rôle, débutant tout d'abord par le bicarbonate de sodium, sel neutre, puis les acides acétique et sulfurique, en terminant par les sels alcalins, sulfate de magnésium et carbonate d'ammonium.

a) En présence d'eau

Avant d'entreprendre l'étude de leur action en présence de sucre, il est utile d'examiner l'effet produit par ces substances lorsqu'il n'y a aucun apport d'hydrate de carbone.

Si, à 10 gr. de pulpe fraîche, nous ajoutons d'une part, 50 cc d'eau et d'autre part 10 cc d'une solution de bicarbonate de sodium à 10 %, après 15 mois de macération, nous constatons que la teneur en huile est de 67 % en augmentation de 1,5 % (exp. 128).

Dans les mêmes conditions, mais avec de l'acide acétique, cette teneur est ramenée à 35,9 % en diminution de 48,6 % (exp. 131).

Avec de l'acide sulfurique, nous obtenons 71,3 %, en augmentation de 8,1 % (exp. 130).

Avec du sulfate de magnésium, la teneur n'est plus que de 42,5 %, soit 35,5 % de diminution (exp. 129).

Enfin, avec le carbonate d'ammonium, la quantité d'huile extraite n'est que de 37,6 %, en diminution de 43 % (exp. 127).

CONCLUSIONS : A l'exception de l'acide sulfurique, ces produits se montrent donc indifférents ou néfastes.

Ainsi, les résultats trouvés au chapitre II (première partie), sont confirmés avec ceci de particulier, et comme nous l'avions indiqué plus haut, que ces substances paraissent plus actives, aussi bien dans leur action positive, que dans leur action négative.

b) En présence d'une solution sucrée

BICARBONATE DE SODIUM :

Alors qu'avec une solution pure de glucose à 10 %, en milieu septique, nous obtenons 68,5 % d'huile (exp. 87), en présence de bicarbonate de sodium, il ne nous a été possible d'en extraire que 67,1 % (exp. 97).

CONCLUSIONS : Ce produit se montre donc, dans ce cas particulier, à peu près indifférent.

Si nous comparons ces chiffres à ceux trouvés précédemment, au cours de l'étude à l'aide d'olives vertes, ou d'olives noires, nous pouvons conclure qu'en milieu septique, l'action du bicarbonate de sodium est :

a) *positive* (c'est-à-dire provoque une augmentation de la teneur en matière grasse) avec des olives vertes.

b) *Indifférente* avec des olives en période de véraison.

c) *Négative* avec des olives noires (régression de la teneur initiale en matière grasse).

ACIDE ACÉTIQUE :

En prenant pour base toujours la même expérience effectuée avec une solution de glucose à 10 % et qui nous a donné 68,5 % d'huile (exp. 87), nous constatons que, dans les mêmes conditions, mais en ajoutant 10 cc d'une solution à 10 % d'acide acétique, la teneur passe à 71,6 %, en augmentation de 8,5 % (exp. 100).

CONCLUSIONS : Ici, influence favorable de cet acide.

Nous rappelons que le seul résultat favorable obtenu avec des olives vertes et cet acide l'a été après macération de 6 mois, en milieu septique.

ACIDE SULFURIQUE :

Si nous ajoutons 10 cc d'une solution à 10 % d'acide sulfurique à une macération composée par ailleurs des mêmes éléments que

ceux de l'expérience n° 87, et pour laquelle nous avons obtenu 68,5 % d'huile, nous trouvons alors une teneur de 73,5 % en augmentation de 11,4 % sur la normale (exp. 74) dans une première expérience et 83,4 %, soit 26,4 % d'augmentation, dans une deuxième expérience (exp. 99).

CONCLUSIONS : Ici encore, en concordance avec ce que nous avons déjà obtenu à l'aide des olives vertes et des olives noires, mais plus nettement accusée encore, influence favorable de l'acide sulfurique.

SULFATE DE MAGNÉSIUM :

Avec addition de ce sel, en milieu septique, nous ne réussissons à extraire que 54,5 % d'huile, en diminution de 17,4 % (exp. 98) alors que, sans lui, la teneur passe à 68,5 % (exp. 87).

En milieu aseptique, la quantité d'huile extraite atteint 71,2 % en augmentation de 7,9 % (exp. 80) sans sulfate de magnésium. En présence de celui-ci, la teneur descend à 65,2 % (exp. 101).

CONCLUSIONS : Influence nettement défavorable dans les deux cas. Résultats identiques à ceux que nous avions déjà constatés avec les fruits verts et avec les fruits noirs.

Le sulfate de magnésium est donc à rejeter comme catalyseur.

CARBONATE D'AMMONIUM :

Influence défavorable également ; en effet :

Après adjonction de ce sel, nous ne réussissons à obtenir que 61,8 % d'huile (exp. 73), alors que, sans lui, la teneur est de 68,5 %.

REMARQUE : Les résultats de ces deux derniers paragraphes infirment donc, tout au moins en ce qui concerne la synthèse à l'aide des lipoformateurs contenus dans la pulpe d'olive, ceux qu'avait obtenus Ludecke, en partant de capsules de graines.

CHAPITRE III

INFLUENCE DE L'ASEPSIE DU MILIEU

a) En présence d'eau

Toujours dans les mêmes conditions de température et de durée, c'est-à-dire 20° C pendant 15 mois, des macérations, dans l'eau pure, de pulpe d'olives en période de véraison nous ont donné :

En milieu septique : 64,7 % d'huile en diminution de 2 % (exp. 94). En milieu aseptique : 64 % d'huile en diminution de 3 % (exp. 85).

CONCLUSIONS : Avec de l'eau pure, la stérilité du milieu a donc peu d'influence. Il en était de même avec les fruits verts et avec les fruits noirs.

b) En présence d'une solution sucrée

AVEC UNE SOLUTION DE GLUCOSE A 5 %.

Nous obtenons :

En milieu septique : 80,2 % d'huile, en augmentation de 21,5 % (exp. 71).

En milieu aseptique : 79,5 % d'huile, en augmentation de 20,5 %, (exp. 79).

CONCLUSIONS : Pour de faibles concentrations, l'asepsie a donc peu d'importance, différence 1 %.

AVEC UNE SOLUTION DE GLUCOSE A 10 % :

Nous obtenons :

En milieu septique : 68,5 % d'huile en augmentation de 3,8 % (exp. 87).

En milieu aseptique : 71,2 % d'huile en augmentation de 7,9 % (exp. 80).

CONCLUSIONS : Ici, la différence est déjà plus sensible ; elle atteint 4,1 % en faveur de l'asepsie.

AVEC UNE SOLUTION DE GLUCOSE A 20 % :

Nous obtenons :

En milieu septique : 53 % d'huile, en diminution de 19,7 % (exp. 88).

En milieu aseptique : 56,4 % d'huile, en diminution de 14,5 % (exp. 93).

CONCLUSIONS : La différence atteint 5,2 % en faveur de l'asepsie.

ENFIN, AVEC UNE SOLUTION DE GLUCOSE A 50 % :

Nous obtenons :

En milieu septique : 50,5 % d'huile, en diminution de 23,5 % (exp. 81). En milieu aseptique : 55,4 % d'huile, en diminution de 16 % (exp. 84).

CONCLUSIONS : La différence en faveur de l'asepsie est encore plus considérable et atteint 7,5 %.

Conclusions générales :

Les expériences ci-dessus montrent clairement, qu'en l'absence de tout antiseptique, la stérilisation du milieu permet d'extraire une plus grande quantité d'huile.

En outre cette différence entre les teneurs dans les milieux stériles et non stériles croît avec la concentration en glucose. Ce fait tendrait à prouver que les microorganismes sont en grande partie responsables de la lipolyse dans les macérations à forte teneur en glucides. Leur prolifération étant d'autant plus intense que la concentration de la liqueur sucrée est plus élevée.

En effet :

Il nous a été permis de constater que, si les solutions glucosées à 1 et à 5 % restent limpides à peu près indéfiniment, sans être stérilisées, il n'en est plus de même de celles à 10, 20 et surtout 50 %. La durée d'inaltération de ces dernières diminuant proportionnellement à l'élévation de la quantité de sucre. Il nous était même difficile de conserver plus de 48 heures des solutions très concentrées ; passé ce délai, les légers flocons de moisissures apparents au sein du liquide, allaient en augmentant rapidement et se répandaient dans tout le ballon.

CHAPITRE IV

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN GLUCIDES

Les résultats du chapitre précédent résumés ci-dessous, nous permettent de constater que l'on obtient respectivement, suivant que le milieu est stérile ou non :

Avec de l'eau pure : 64 % d'huile (exp. 85) et 64,7 % (exp. 94).

Avec une solution de glucose à 5 % : 80,2 % d'huile (exp. 71) et 79,5 % (exp. 79).

Avec une solution de glucose à 10 % : 68,5 % (exp. 87) et 71,2 % (exp. 80).

Avec une solution de glucose à 20 % : 53 % (exp. 88) et 56,4 % (exp. 93).

Avec une solution de glucose à 50 % : 50,5 % (exp. 81) et 55,4 % (exp. 84).

CONCLUSIONS : La quantité de matière grasse extraite est donc en raison inverse de la quantité de sucre contenue dans la macération ; elle décroît en effet régulièrement au fur et à mesure que la concentration en glucides augmente.

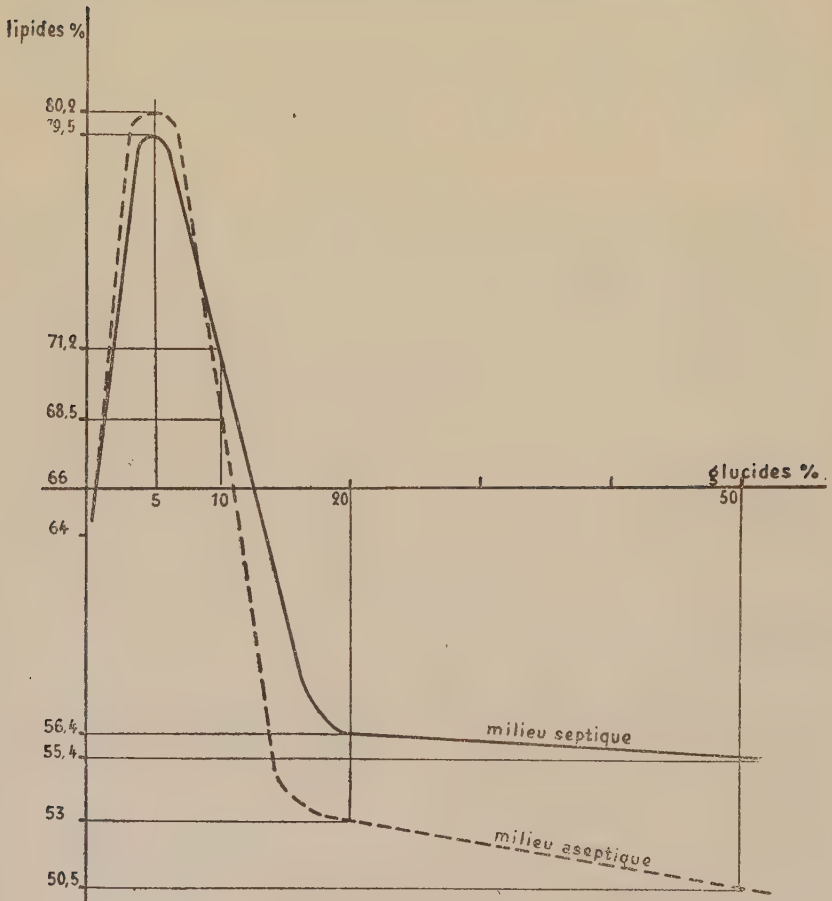
Mais, par ailleurs, en l'absence de toute trace de sucre (cas de l'eau pure) la quantité d'huile trouvée en fin d'expérience est sensiblement identique à celle qui s'y trouvait au début.

Donc :

Tout comme avec les fruits verts et avec les fruits noirs, l'optimum de concentration en glucides paraît être situé aux environs de 5 %. La représentation graphique de ce cas particulier (courbe N° II) possède d'ailleurs, la même allure que celle du chapitre V (courbe N° I).

REPRESENTATION GRAPHIQUE N° II
Cas des olives cueillies pendant leur véraison

Influence de la concentration en glucides



TROISIEME PARTIE

CAS DE LA MANNITE

Depuis Leclerc du Sablon (1896), de nombreux auteurs tels que Vallée (1903), Iwanow (1912), etc... ont nettement montré que les lipides élaborés dans les cellules végétales ont les glucides pour origine.

Personnellement nous avons pu constater que, dans certaines conditions bien définies, il était possible de provoquer *in vitro* la synthèse de ces corps à partir d'oses et de diholosides.

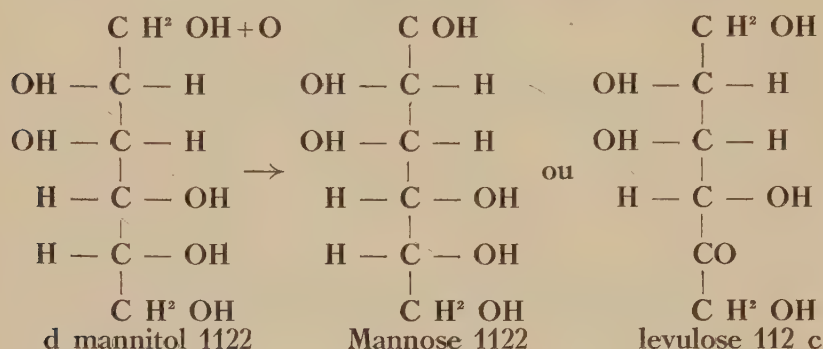
Par ailleurs Canzoneri, Power, Tutin et plus tard Scurti, Tommasi et Fornaini ont estimé que les acides gras pourraient également avoir pour origine des alcools à poids moléculaire élevé.

A notre tour, nous avons donc cherché à savoir si, partant d'un polyol, il était possible d'arriver à des résultats semblables à ceux que nous avons déjà obtenus avec des mono et des disaccharides.

Quoique malgré les assertions de De Luca, datant déjà de 1861, Funaro, Hartwich et Uhlmann n'aient pas réussi à déceler la mannite dans l'olive en voie de maturation, nous avons cependant tenu, eu égard à l'intérêt que pouvait présenter ce point, à connaître la réaction des ferments lipoformateurs en présence de cet hexol.

Nous avons donc utilisé la mannite, alcool à six atomes de carbone, pouvant servir à deux fins ; être directement employé par les lipases sous sa forme alcoolique suivant l'hypothèse émise par

les auteurs précités, ou bien être préalablement convertie en oses par oxydation suivant les réactions schématiques suivantes :



Dans une nouvelle série d'expériences, nous remplacerons les glucides précédemment utilisés (glucose et saccharose) par de la mannite et nous emploierons comme vecteurs de ferments, des fruits au stade de maturation le plus favorable, c'est-à-dire en période de veraison.

a) Mannite seule

Opérant tout d'abord en présence de solutions de mannite à des concentrations croissantes, nous obtenons, après 15 mois de macération, à la température de 20°, en milieu aseptique, les résultats suivants :

Avec une solution à 1 % :

76,5 % d'huile en augmentation de 15,9 % (exp. 113).

Avec une solution à 5 % :

80,8 % d'huile en augmentation de 22,4 % (exp. 114).

Avec une solution à 10 % :

64,7 % d'huile, en diminution de 2 % (exp. 115).

Avec une solution à 20 % :

59,2 % d'huile en diminution de 10,3 % (exp. 116).

CONCLUSIONS : Un premier examen de ces résultats nous permet de noter que, avec la mannite, comme avec le glucose, il paraît y avoir une concentration optimum située vers 5 % et que des teneurs plus élevées se révèlent, au contraire, comme néfastes ; arrivant même à provoquer une oléolyse notable lorsque la concentration devient supérieure à 10 % ; la représentation graphique N° III illustre d'ailleurs cette constatation.

Dans un deuxième examen, si nous comparons les résultats obtenus avec le glucose, d'une part, et avec la mannite, d'autre part, nous voyons que les quantités d'huile extraites sont, à peu de choses près, identiques. Il suffit pour cela d'examiner le tableau N° 14 et la courbe N° III.

Utilisée seule, la mannite donne donc, à l'optimum de concentration (5 %) des résultats comparables à ceux que l'on obtient avec le glucose ; par contre, cet alcool se montre inférieur à ce dernier dès que l'on dépasse cette teneur (cas des concentrations à 10 et 20 %).

b) Mannite associée à un catalyseur

Si maintenant nous ajoutons, à une solution de mannite, une des substances précédemment employées et appelées (improprement d'ailleurs) catalysatrices, en aucun cas nous n'avons pu obtenir d'augmentation. Le tableau N° 15 permet d'ailleurs de s'en rendre compte.

CONCLUSIONS : Les ferments lipoformateurs contenus dans les fruits en période de véraison paraissent donc pouvoir utiliser la mannite au même titre que le glucose, mais leur pouvoir lipogénétique n'est, en aucun cas, exalté par ces catalysateurs.

C'est ainsi, par exemple, et comme nous l'avions déjà constaté avec le glucose, que l'acide acétique et le sulfate de magnésium se montrent nettement défavorables.

REPRESENTATION GRAPHIQUE N° III

Cas de la Mannite

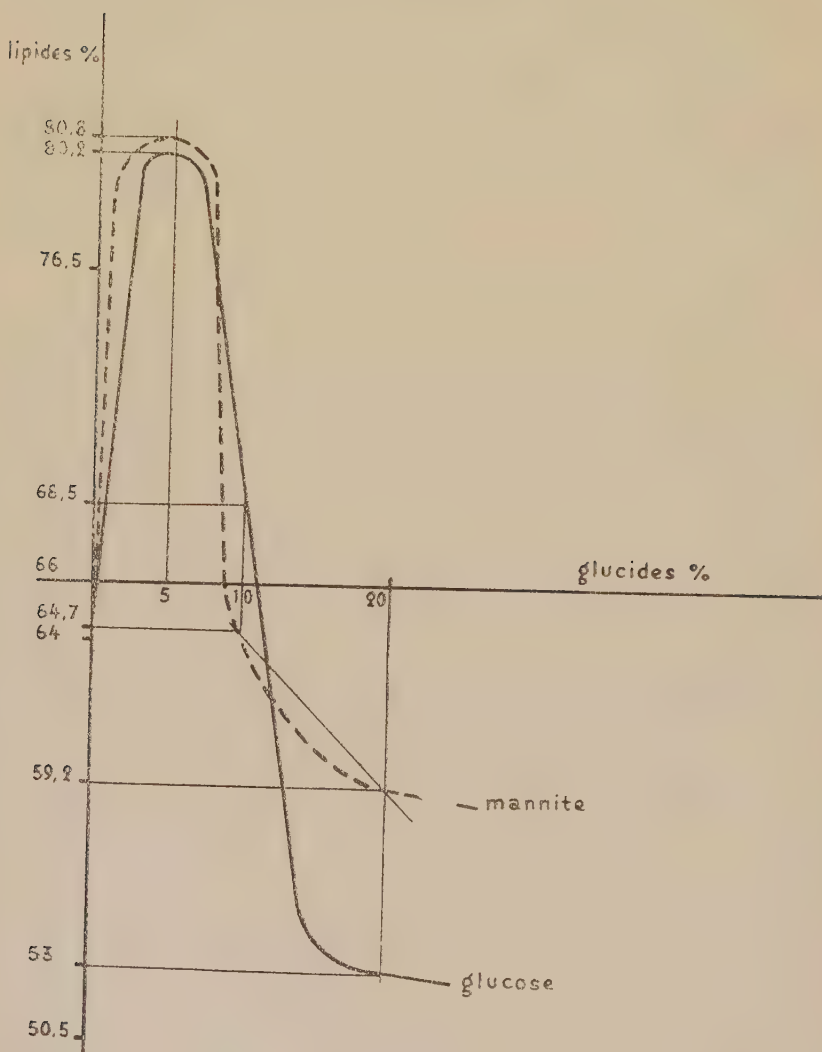


TABLEAU N° 14

Pour l'étude de l'influence de la mannite

DURÉE DE MACÉRATION : 15 mois.

TEMPÉRATURE : 20°.

MILIEU ASEPTIQUE.

CONCENTRATION DU GLUCIDE EN %	N° EXPÉR.	% HUILE. AVEC GLUCOSE	% HUILE. AVEC MANNITE	N° EXPÉR.
5 %	79	79,5	80,8	114
10 %	80	71,2	64,7	115
20 %	89	63,6	59,2	116

TABLEAU N° 15

Pour l'étude de l'influence de la mannite associée à un catalyseur

DURÉE DE MACÉRATION : 15 mois.

TEMPÉRATURE : 20°.

MILIEU ASEPTIQUE.

N° EXPÉR.	CATALYSEUR EMPLOYÉ	% HUILE	% DIMINUTION
1° — Avec une solution de mannite à 10 %			
117	CO ³ Am	64,8	1,8
120	SO ⁴ H ²	59,6	9,7
118	CO ³ HNa	56,8	13,8
119	SO ⁴ Mg	42	36,4
121	CH ³ COOH	28,2	57,3
2° — Avec une solution de mannite à 20 %			
123	CO ³ HNa	60	9,1
124	SO ⁴ Mg	41,1	37,8
122	CO ³ Am	33,4	49,5

QUATRIEME PARTIE

ETUDE DE L'HUILE OBTENUE

Avant d'entreprendre l'étude des constituants chimiques de cette huile, il nous a paru intéressant d'émettre une hypothèse sur l'origine de celle-ci ainsi que sur son mode de formation.

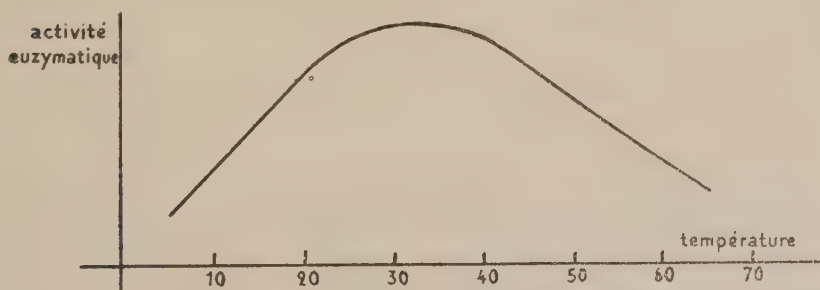
CHAPITRE PREMIER

HYPOTHESE SUR L'ORIGINE ET LA FORMATION DE CETTE HUILE

Voyons d'abord de quelle nature est la transformation qui a présidée à cette synthèse, et, pour cela, examinons les représentations graphiques I, II et III.

Ces courbes montrent, d'une part, qu'il ne saurait être question ici d'un processus uniquement chimique car nous aurions alors obtenu, soit une droite, soit une courbe à asymptote.

D'autre part la forme parabolique des trois représentations graphiques (tout au moins dans leur partie positive, la seule qui nous intéresse), c'est-à-dire la forme à maximum correspondant à un optimum, est nettement caractéristique des phénomènes biologiques : en effet, reproduisons par exemple la courbe de « l'influence de la température sur l'activité enzymatique dans les végétaux » et comparons-la à celles que nous avons obtenues :



Nous voyons qu'avec un choix judicieux des coordonnées, nous pourrions exactement superposer les courbes I, II et III à celle-ci.

Cette synthèse a donc vraisemblablement été provoquée par un phénomène vital du même ordre.

Cherchons maintenant à connaître par suite de quels processus cette huile a fait son apparition. A-t-elle été créée directement à partir des glucides contenus dans les macérations ou, au contraire, ne s'est-il produit au cours du vieillissement et en raison même de la durée de celui-ci, qu'une autolyse au sein de la pulpe avec désintégration des parois cellulaires. Il y aurait eu alors, comme le suppose Fiedler, une simple exosmose de lipides que, sans cette macération, les solvants n'auraient pu extraire complètement des cellules. Les membranes celluloses des fruits frais sont, en effet, difficilement perméables à l'éther de pétrole. Après vieillissement des solutions, la cellulose, partiellement hydrolysée et ramollie aurait été facilement imbibée et traversée par le solvant.

Nous trouverions-nous en présence d'un simple phénomène d'exosmose de corps gras, par suite de la modification de la pression osmotique provoquée par l'accroissement de la concentration moléculaire du milieu grâce à l'adjonction d'un corps à grosse molécule.

Y a-t-il eu scission de molécules complexes de lipoprotéides en composés protéiques d'une part et groupe prosthétique d'autre part ; ce dernier se décomposant à son tour pour libérer les composés purement lipidiques. Nous savons en effet, que, si les glycérides contenus dans les enclaves huileuses constituent la majeure partie des corps gras protoplasmiques, ils sont cependant loin d'en représenter la totalité. A côté de ces glycérides, très solubles dans l'éther de pétrole et par conséquent facilement séparables de leur substratum, se trouvent des lipides complexes, partie intégrante de la matière vivante : phospho lipides tels que la phytine, phosphoaminolipides tels que les lécitines, lipoprotéides entrant dans la constitution des membranes plasmiques et du nucléoplasma, dont l'extraction par les solvants habituels des graisses est beaucoup plus lente puisque, dans la plupart des cas, une désintégration préalable de ces molécules complexes est nécessaire : or la longue durée de macération de la pulpe dans un milieu aqueux peut avoir provoqué cette scission, libéré les constituants lipidiques des constituants protéiques ou phosphorés et permis ainsi leur solubilisation dans l'éther de pétrole.

Si la première hypothèse s'avérait exacte, nous ne voyons pas

qu'elle aurait été l'utilité de la présence de glucides, à l'exclusion de tout autre corps. Or il est à remarquer que la création d'huile n'a été observée qu'avec des solutions sucrées. Le glucide employé a donc une action nettement spécifique et qui ne peut être expliquée que si cette substance entre elle-même en réaction pendant la formation des lipides.

D'autre part, même si le phénomène autolytique ne doit pas être entièrement rejeté, tout au moins en tant que générateur d'une très petite quantité de matières grasses, il ne peut servir ici à expliquer complètement l'apparition de 28,5 % d'huile nouvelle.

On ne peut, en effet, admettre qu'il se soit trouvé, dans la pulpe des olives utilisées, une telle quantité de lipoprotéides que la scission de leurs molécules ait donné lieu à l'apparition d'une aussi grande quantité d'huile.

Les dosages d'azote que nous avons effectués sur la pulpe de ces fruits n'ont, en effet, accusés en utilisant la méthode classique de Kjeldahl, qu'une moyenne de 0,406 % d'azote total. Ce qui correspondrait à : $0,406 \times 6,25 = 2,54$ %, seulement de protéines (en admettant que toutes les protéines et toutes les protéides contiennent 16 % de leur poids en azote et en comptant l'azote minéral comme azote organique) double erreur par excès que nous pouvons nous permettre puisqu'il ne s'agit ici que d'une approximation grossière du taux de substances azotées et qu'en outre, comptant l'azote minéral au même titre que l'azote organique, les chiffres trouvés pour le taux de protéines sont, de ce fait, supérieurs à la réalité.

Il est donc bien évident que les 2,54 % d'albuminoïdes divers, dont cependant les lipo-protéides ne constituent qu'une faible partie, sont nettement insuffisants pour justifier l'apparition de 28,5 % de lipides nouveaux.

Il faut chercher ailleurs la raison de l'excès de corps gras trouvé après vieillissement des macérations.

Si nous considérons maintenant le deuxième cas, se pourrait-il qu'il n'y ait eu qu'un simple phénomène d'exosmose ? Comment expliquer alors que nous obtenons un optimum de concentration en deçà et au delà duquel la formation de lipides régresse progressivement, arrive à s'annuler, puis à devenir négative, les courbes N^{os} I, II et III en font foi.

Même en ne faisant pas état de cette observation, cette exosmose pourrait-elle, à elle seule, expliquer l'apparition de près d'un

tiers de lipides nouveaux ? Nous ne le croyons pas car, d'une part, cette augmentation est beaucoup trop considérable et, d'autre part, si cette hypothèse se révélait exacte, l'huile obtenue aurait exactement les mêmes caractères que l'huile de pulpe. Or :

Si nous considérons l'indice d'iode, nous remarquons que celui-ci n'atteint que 43,3 pour l'huile de synthèse, alors que pour l'huile naturelle, il passe à 82,1. La différence entre ces deux chiffres démontre que la constitution des acides gras entrant dans ces deux lipides est nettement différente. Ce fait milite donc en faveur de la synthèse proprement dite et non d'une simple exosmose de glycérides préexistants à l'origine dans les cellules de la pulpe. Si, après macération, nous n'avions obtenu qu'un « vidage » plus complet de ces cellules, nous obtiendrions, certes, une plus grande quantité de corps gras, mais ils posséderaient, à peu de choses près, les mêmes caractéristiques chimiques que l'huile d'olive puisqu'ils seraient formés des mêmes acides (acide oléique prédominant) ; par conséquent, l'indice d'iode aurait, à peu de chose près, la même valeur. Au lieu de cela, nous nous trouvons en présence d'un indice attestant que l'on a ici un lipide constitué, dans sa presque totalité, par des acides saturés.

L'aspect épais de cette huile est d'ailleurs là pour corroborer cette observation et montrer que l'on se trouve bien en présence de glycérides d'acides concrets.

Cet abaissement de l'indice d'iode démontre donc que les lipides élaborés au cours du vieillissement de nos macérations sont à peu près exclusivement constitués par des acides gras saturés.

Cette observation est intéressante car elle confirme celle d'Iwanow en 1912, de Gardner en 1915 et de White en 1919. Ces auteurs ont en effet constaté que, durant l'élaboration physiologique de l'huile dans le végétal, ses caractères chimiques ne demeurent pas immuables. Alors qu'à l'origine ces lipides sont constitués par des acides gras dont toutes les liaisons sont saturées, il apparaît pendant le mûrissement du fruit, une quantité croissante d'acides dont le nombre de liaisons éthyléniques devient de plus en plus grand.

Ceci est à mettre en parallèle avec les recherches de Margailan sur les huiles de delphinidès (1929). Cet auteur ayant clairement montré l'augmentation constante de l'indice d'iode au fur et à mesure de la progression de celles-ci sur tout le parcours du tube digestif de ces animaux marins.

Constituées par des acides saturés, en presque totalité à l'entrée, l'indice d'iode n'atteint en effet que 36 en moyenne dans la tête, ces huiles voient l'insaturation de leurs constituants augmenter régulièrement pour arriver, à la sortie, à titrer 148 I. J.

Ces observations constituent plus qu'une simple coïncidence, puisque nous retrouvons les mêmes règles dans le règne animal et dans le règne végétal.

Nous trouvons-nous en présence d'une loi générale et devons-nous considérer que les lipides élaborés par les organismes et tels que nous pouvons les recueillir chez les animaux ou les végétaux, ne constituent que le terme final d'une évolution continue des caractères, et par conséquent des constituants, de cette matière ?

Quoiqu'il en soit, il paraîtrait s'être produit — *in vitro* — dans nos macérations, un processus du même ordre que ceux qu'ont constaté — *in situ* — Ivanow, Gardner et White chez les végétaux et Margaillan, chez les animaux.

EN RÉSUMÉ : Il a été démontré :

1° — Au chapitre I des première et deuxième parties, que ces lipides ne se forment qu'en présence des glucides.

2° — Que la scission des molécules de protéines conjuguées ou que l'exosmose des dernières traces de corps gras encore contenus dans les cellules ne peut donner lieu qu'à une élaboration absolument insignifiante d'huile.

3° — Que les caractères chimiques de ces lipides sont nettement différents de ceux déterminés pour l'huile naturelle de pulpe d'olive.

4° — Que l'indice d'iode, anormalement bas, prouve que nous nous trouvons en présence d'un corps gras différent de l'huile d'olive et semblable à celui qui se produit, au début de la lipogénèse, dans le végétal.

CONCLUSIONS : En présence de ces faits, nous croyons pouvoir conclure :

a) Que nous sommes en présence d'une huile n'existant pas auparavant.

b) Que c'est bien aux glucides utilisés dans les macérations que nous devons la formation des lipides obtenus en excédent sur la teneur normale.

CHAPITRE II

CARACTERES DE L'HUILE OBTENUE

Nous avons conservé les produits résultant des expériences ayant donné une teneur au moins égale à 79,3 %, c'est-à-dire provenant de macérations pour lesquelles l'augmentation en huile a été égale ou supérieure à 20 % (Nous rappelons que la teneur normale en huile de la pulpe d'olive employée était de 66 %, teneur rapportée au poids de matière sèche lavée).

Après élimination des dernières traces d'eau et de solvant, cette huile a été filtrée plusieurs fois à chaud sur coton, puis sur papier josph et, enfin, déshydratée au sulfate de sodium.

Sa couleur est vert brunâtre ; elle est beaucoup moins fluide que l'huile d'olives fraîches.

Ne pouvant naturellement pas séparer l'huile de synthèse proprement dite de l'huile provenant de la pulpe, nous avons déterminé les caractères chimiques de ce mélange, et les avons comparés :

1° Avec ceux d'huile provenant de fruits conservés 15 mois en flacons stérilisés et ayant subi, par conséquent, la même durée de vieillissement que les macérations, mais sans avoir été en contact avec une solution hydro-glucidique.

2° Avec ceux d'une huile de pulpe d'olives fraîches.

Caractères physiques

L'huile de pulpe fraîche est très fluide, d'une belle couleur jaune verdâtre. Elle est parfaitement limpide.

L'huile de fruits conservés 15 mois est noirâtre, coloration vraisemblablement provoquée par l'oxydation des tannins. Elle est visqueuse, trouble. De nombreuses filtrations n'ont pas réussi à la clarifier.

L'huile de synthèse est d'une coloration vert brunâtre. Elle est parfaitement limpide, mais beaucoup plus épaisse que l'huile naturelle extraite des fruits frais.

Caractères chimiques

Les chiffres qui vont suivre ont été établis d'après les principes émis au Tome I des « Matières Grasses et Industries Dérivées », chapitre de l'analyse technique des matières grasses (1), et en suivant strictement le mode opératoire des *Cahiers du Laboratoire des Matières Grasses* (2).

En raison des divergences des méthodes utilisées dans les laboratoires officiels et privés, tant en France qu'à l'étranger pour la détermination de ces indices, nous avons jugé préférable d'indiquer succinctement ci-dessous, les principes et modes opératoires des techniques employées par nous.

INDICE DE SAPONIFICATION :

Définition : C'est le nombre de milligrammes de KOH nécessaire pour saponifier un gramme de corps gras.

Mode opératoire : 2 grammes de corps gras sont saponifiés par ébullition de 30 minutes sous réfrigérant ascendant avec 25 cm³ de liqueur demi-normale de potasse dans l'alcool à 96° (sans addition d'eau).

La saponification achevée, on titre en retour en présence de phénolphthaléine, à l'aide d'acide sulfurique demi-normal.

On effectue un essai à blanc dans des conditions identiques avec la liqueur de potasse sans corps gras. Soit :

a) le poids du corps gras pesé ;

b) le nombre de centimètres cubes de liqueur N/2 d'acide employé dans l'essai à blanc ;

c) Le nombre de centimètres cubes de liqueur N/2 d'acide employé dans l'essai réel, l'indice de saponification est :

$$\text{I. S.} = \frac{28}{a} \times (b-c)$$

(1) P. RIVALS et L. MARGAILLAN. — Bailliére, édit., Paris 1934.

(2) Publication de l'Institut Technique Supérieur de la Chambre de Commerce de Marseille, 1931.

A l'aide de la méthode ci-dessus indiquée et en effectuant, dans chaque cas, trois essais, dont nous avons ensuite pris la moyenne, nous obtenons pour :

L'huile de pulpe d'olives fraîches	I. S. = 193,7
L'huile de fruits conservés 15 mois	I. S. = 192,4
Le mélange d'huile de synthèse et d'huile naturelle	I. S. = 189,7

INDICE D'IODE :

Définition : L'indice d'iode est le poids, exprimé en grammes d'iode, des halogènes susceptibles d'être fixés par 100 grammes de corps gras.

Mode opératoire : Afin qu'il n'y ait aucune confusion dans l'esprit de ceux qui nous liront, étant donné, en particulier, qu'à l'heure actuelle, trois méthodes : celle de Hanus, celle de Wijs et celle de Hubl se partagent la faveur des chimistes ; nous indiquons ci-dessous, d'une façon précise, les détails du mode opératoire utilisé.

Nous avons donné la préférence à celui de Hanus, car il donne des résultats rapides et très concordants :

PRÉPARATION DE LA LIQUEUR DE HANUS :

10 grammes de mono-bromure d'iode IBr sont dissous dans 500 cm³ d'acide acétique cristallisable pur, dans un flacon jaune bouché à l'émeri.

Cette dissolution demande un certain temps et il est nécessaire de préparer cette liqueur plusieurs jours à l'avance en la maintenant de préférence à l'obscurité.

Mode opératoire : Dans un flacon de 200 cm³ à large ouverture, bouché à l'émeri, préalablement lavé et parfaitement séché, on introduit une prise d'essai de la matière grasse étudiée, p , qui

32

sera au plus de l'ordre de ——— grammes, en appelant IJ l'indice d'iode présumé.

En ce qui nous concerne, p devra donc être compris entre 0 gr. 3 et 0 gr. 6.

On fait dissoudre le corps gras dans 10 cm³ de tétrachlorure de carbone pur et sec, et on y ajoute 25 cm³, très exactement me-

surés avec une burette spéciale, de liqueur de Hanus. On agite, on abandonne à l'obscurité pendant 3/4 d'heure à la température du laboratoire, en agitant de temps en temps, puis on ajoute 15 cm³ d'une solution à 10 % d'iodeure de potassium pur, 100 cm³ d'eau, et l'on titre l'iode libre avec une solution de thiosulfate de sodium décinormal.

On fait simultanément un essai à blanc sans corps gras.

Soient n et n_0 les volumes, en centimètres cubes, de liqueur de thiosulfate versée dans l'essai avec huile et dans l'essai à blanc, p , le poids de l'huile en expérience. L'indice d'iode cherché est :

$$I. J. = \frac{n_0 - n}{p} \times 12,7$$

A l'aide de cette méthode, nous avons trouvé les chiffres suivants, qui représentent la moyenne de plusieurs essais dans chaque cas :

Huile de pulpe d'olives fraîches	I. J. = 82,1
Huile de fruits conservés 15 mois	I. J. = 64
Mélange d'huile de synthèse et d'huile naturelle	I. J. = 43,3

INSAPONIFIABLE :

Nous avons opéré par la méthode de voie humide : saponification par la potasse alcoolique, épuisement par l'éther de pétrole léger du savon ainsi formé et enfin élimination de ce solvant.

Mode opératoire : Dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant, on pèse, avec précision, 5 gr. de corps gras, on y ajoute 50 cm³ d'une solution environ deux fois normale de potasse dans l'alcool à 95°. On porte à légère ébullition que l'on maintient pendant une heure. On ajoute alors par le haut du réfrigérant 50 cm³ d'eau distillée. On agite, on laisse refroidir et l'on transvase le contenu du ballon dans une boule à décantation. On rince le ballon en opérant en plusieurs fois, avec 50 cm³ au total, d'éther de pétrole bouillant au-dessous de 70° ($d = 0,640 - 0,645$) redistillé, exempt de résidu, qui est ensuite transvasé dans la boule à décantation. On agite une centaine de fois pour assurer un contact intime entre l'éther de pétrole et la solution savonneuse. On abandonne au repos, et quand les deux phases sont complètement séparées, on soutire dans une deuxième boule à décantation la solution savon-

neuse qu'on épuise de nouveau, avec 50 cm³ d'éther de pétrole neuf, on décante et on fait encore une troisième extraction de la solution savonneuse par 50 cm³ d'éther de pétrole neuf.

Les trois portions d'éther de pétrole sont alors réunies dans une même boule et on les lave, trois fois de suite avec chaque fois 50 cm³ d'alcool à 50°.

On transvase enfin l'éther de pétrole dans un ballon à distillation. On distille au bain-marie jusqu'à résidu de quelques centimètres cubes. Le résidu est alors versé dans un cristalliseur taré, et le ballon rincé soigneusement avec de petites portions d'éther de pétrole que l'on verse dans le cristalliseur. On laisse évaporer le solvant à l'air libre, puis on porte le cristalliseur pendant 15 minutes, sur un bain-marie bouillant. On laisse refroidir dans un dessicateur et on pèse.

Nous obtenons alors les chiffres suivants (moyenne de trois essais effectués dans chaque cas) :

Huile de pulpe d'olives fraîches	0,95 % d'insaponifiable
Huile de fruits conservés 15 mois	2,60 % d'insaponifiable
Mélange d'huile de synthèse et d'huile naturelle	1,15 % d'insaponifiable

REMARQUE : Nous obtenons une teneur de 2,6 % pour l'huile provenant de fruits conservés 15 mois. Ce chiffre, très élevé, provient vraisemblablement de l'altération subie par ces fruits durant leur longue période de conservation à sec et malgré leur stérilisation ; altération confirmée par le fait que cette huile possède une acidité très élevée (39,5 %).

Pour plus de clarté, nous avons réuni tous ces indices dans le tableau ci-dessous :

TABLEAU N° 16

INDICES	HUILE DE FRUITS FRAIS	HUILE DE FRUITS CONSERVÉS 15 MOIS	MÉLANGE D'HUILE DE SYNTHÈSE ET D'HUILE NATURELLE
I. S.	193,7	192,4	189,7
I. J.	82,1	64	43,3
Insaponifiable % .	0,95	2,60	1,15

Conclusions :

En présence de ces chiffres, et en ne perdant pas de vue que cette étude est purement un travail de chimie industrielle, quels

sont les caractères que l'on doit demander aux lipides ainsi formés pour qu'ils puissent être considérés comme tels par l'industrie et éventuellement, utilisés au même titre que les corps gras naturels.

Nous observons en premier lieu que l'indice de saponification diminue d'une huile à l'autre et passe de 193,7 pour une huile de fruits frais à 189,7 pour l'huile de récupération. Nous restons cependant dans les limites acceptables ; ces chiffres étant égaux et même supérieurs à ceux de nombreux autres lipides naturels tels que l'huile de tournesol (188), l'huile de sésame (188), l'huile de pépins de raisins (187), l'huile de ricin (180) et l'huile de colza (177) pour ne citer que les produits les plus employés dans l'industrie.

L'indice d'iode est, pour l'huile de récupération, anormalement bas : normal pour l'huile extraite de fruits frais (82,1), il passe à 64 pour l'huile de fruits conservés 15 mois et n'atteint plus que 43,3 pour l'huile obtenue après vieillissement de nos macérations.

Mais, le fait que l'on se trouve en présence d'un pourcentage élevé d'acides gras saturés ne peut pas nuire aux traitements chimiques ultérieurs, tels que la saponification ou l'hydrolyse. En outre, il ne peut constituer qu'un avantage en stéarinerie.

Quant à la quantité d'insaponifiable, elle est pratiquement négligeable. Elle atteint, en effet, 1,15 % seulement ; nous n'aurons donc pas de déchets appréciables au cours des traitements.

En somme, rien ne nous permet de supposer que le produit éthéro-soluble retiré de la transformation du glucose n'est pas un lipide. En outre, en raison de ses caractères chimiques, ce dernier pourra être traité sans aucune difficulté en savonnerie ou en stéarinerie puisque, ainsi que nous le verrons plus loin, au chapitre de l'insaponifiable, cette huile ne contient que des traces indosables de corps difficilement saponifiables tels que cires ou résines.

EN RÉSUMÉ : Nous voyons que cette huile pourra, du point de vue industriel, rendre les mêmes services qu'une huile végétale naturelle.

CHAPITRE III

ETUDE DE L'INSAPONIFIABLE

L'indice de saponification de l'huile de récupération (mélange d'huile naturelle et d'huile de synthèse) étant légèrement inférieur à celui de l'huile extraite de fruits frais (189,7 au lieu de 193,7) nous avons estimé utile de doser d'abord d'une façon précise et d'examiner ensuite de près l'insaponifiable, de façon à voir si l'augmentation de la teneur en huile dans plusieurs de nos expériences, était vraiment due à la création d'une certaine quantité de glycérides ou si nous avions seulement réussi à extraire des cellules de la pulpe des matières qui, tout en étant insolubles dans l'eau et solubles dans l'éther de pétrole, ne pouvaient cependant pas être assimilées à ces esters.

Nous observons, en premier lieu, que cet indice n'a diminué que de 2,1 % alors que la quantité de matières grasses créée a été, dans certains cas, de 28,5 %.

Il en est de même pour ce qui concerne la légère augmentation de matières insaponifiables (1,15 au lieu de 0,95 %).

Les faibles variations observées pour ces deux indices ne peuvent donc justifier à elles seules, l'apparition de près d'un tiers de nouveau produit.

Malgré cela, nous avons extrait une certaine quantité d'insaponifiable, puis nous l'avons examiné à l'œil d'abord, au microscope ensuite, afin d'en déceler les constituants.

EXAMEN MACROSCOPIQUE

HUILE DE FRUITS CONSERVÉS 15 MOIS :

Le résidu sec de la solution étherée d'insaponifiable obtenu d'après la technique décrite dans la quatrième partie, chapitre II,

est d'une couleur orangée foncée, d'un aspect cireux et homogène, à texture complètement amorphe. L'œil n'y décèle aucune trace de cristallisation.

HUILE DE SYNTHÈSE :

Le résidu est d'une coloration beaucoup plus claire que le précédent : il est d'un blanc jaunâtre, d'un aspect cireux, strié de longues taches blanchâtres, la texture en est nettement hétérogène, les parties amorphes étant sillonnées par des trainées cristallines.

EXAMEN MICROSCOPIQUE

PRÉPARATION DES LAMES D'EXAMEN :

Etant entendu que nous ne cherchons pas à obtenir des stérols purs et cristallisés, mais au contraire à déceler tous les composants de cet insaponifiable, nous avons évité de pousser trop loin la purification, afin de n'en rien éliminer.

Par conséquent, nous n'avons traité ce résidu par aucun réactif de transformation ; c'est la raison pour laquelle nous n'avons employé ni l'anhydride acétique, ni la digitonine, capables de mettre en évidence des cristaux purs de phytostérol, mais susceptibles d'altérer les cristallisations d'alcools cériques et résiniques et de décomposer les précipitations de globules cireux non dédoublés par la saponification.

Nous avons cherché, avant toute chose :

1° A opérer une séparation aussi nette que possible des divers éléments.

2° A présenter ceux-ci sous leur aspect le plus caractéristique, par conséquent, le plus facilement identifiable.

3° A les mettre en évidence sur un fond de teinte nettement plus claire, ou plus foncée, afin de permettre la reproduction photographique avec le maximum de contrastes.

Afin d'obtenir une bonne répartition, dans le champ de l'oculaire, et sur le verre dépoli de la chambre noire, des trois composants principaux de cet insaponifiable, savoir : les cristaux de stérols, les cristaux d'alcools cériques et enfin les concrétions céryliques non altérées et, par conséquent, leur mise en évidence, nous avons cherché à ne purifier ce résidu que juste assez pour éviter les magmas de boules cireuses ou de cristallisations.

Ces purifications fractionnées ont été obtenues par des reprises successives à l'éther de pétrole et à l'alcool à 95°, solvants utilisés soit bouillants, soit seulement tièdes, soit même complètement froids.

Nous avons alors observé ce qui suit :

Examen des préparations

TRAITEMENT PAR L'ÉTHÉR BOUILLANT :

Si la reprise du résidu a lieu uniquement par l'éther bouillant et que ce solvant puisse s'évaporer entièrement avant d'avoir atteint la température ambiante, les cires ne sont pas éliminées ; elles fondent sous l'action de la chaleur et emprisonnent les stérols ; ceux-ci ne peuvent alors pas cristalliser librement et la photographie ne nous montre que des agglomérats informes, à l'aspect vaguement étoilé et à l'intérieur desquels il nous est impossible de déceler quoi que ce soit (photo A et dessin J).

TRAITEMENT PAR L'ÉTHÉR TIÈDE :

Par contre, si l'éther n'est que tiède et que la quantité soit suffisante pour permettre un refroidissement à la température ambiante avant évaporation complète, l'aspect est nettement différent ; une petite quantité de matières cireuses et résiniques enrobe toujours le phytostérol en l'empêchant de cristalliser, mais le refroidissement ayant permis à la majeure partie de cette substance de s'isoler en sphérules, les cristallisations ne restent enveloppées que par une mince pellicule cireuse et nous observons déjà les pointements caractéristiques d'une ébauche de cristallisation « en touffes », à cristaux très petits ; la présence de la cire empêchant le développement de ceux-ci, ils se divisent alors en une multitude d'aigrettes (photo D).

TRAITEMENT PAR L'ALCOOL BOUILLANT :

Si maintenant nous traitons le résidu sec de la solution éthérée d'insaponifiable par l'alcool à 95°, alcool bouillant en premier lieu, nous observons de très nombreuses arborisations et des chaînettes beaucoup plus fines que les magmas précédents. Celles-ci ne sont pas encore constituées par des cristaux purs, mais une grande partie des matières cériques ayant été éliminées, nous som-

mes ici en présence de chaînes cristallines en aiguilles pouvant être représentées schématiquement par le dessin K.

Cet aspect se présente en particulier lorsque l'évaporation complète du solvant s'est effectuée entièrement avant que la température n'ait été ramenée à l'ambiance du laboratoire (photo B).

TRAITEMENT PAR L'ALCOOL TIÈDE :

Lorsque le refroidissement a lieu plus lentement, ou que le solvant employé n'est qu'à la température de 45-50° et que le lavage à l'alcool a été suffisant pour éliminer la presque totalité de la cire, les cristaux peuvent se former et se développer plus librement là où la matière cireuse a complètement fait défaut ; nous observons alors, soit de fines aigrettes, réunies en touffes (photo A et F) soit de gros cristaux en « lames de scie » ou en « lames de sabres » de stérols purs, que la photo C et son agrandissement I mettent parfaitement en évidence.

Dans une même préparation on peut d'ailleurs observer simultanément ces quatre aspects (inagmas cériques informes enrobant les stérols, arborisations de cristaux encore recouverts d'une mince pellicule cireuse et enfin cristallisations phytostériques presque pures, soit en aigrettes soit en lames (photo C et I).

Les proportions respectives de l'une ou l'autre forme dépendent avant tout :

1° De la température en fin de dessiccation, en permettant ou non aux cires de s'agglomérer en gouttelettes, débarrassant ainsi les cristallisations de leur enrobage amorphe.

2° De la quantité de solvant utilisé pour le lavage du résidu.

Les photos C, I et E nous montrent un aspect caractéristique des concrétions cireuses, constituées par de la matière non attaquée au cours de la saponification. Elles sont très visibles en raison de leur réfringence particulière et de leur forme parfaitement sphérique.

TRAITEMENT PAR L'ALCOOL FROID :

Enfin le traitement par l'alcool froid nous permet de mettre en évidence des cristaux absolument purs d'acides et d'alcools cériques, à forme losangique parfaitement régulière et isolés les uns des autres.

Grâce à la réfringence de leurs faces et à la faveur d'un très fort agrandissement (photo H), nous sommes à même de constater

qu'ils paraissent constitués par deux pyramides triangulaires accolées par leur base.

En effet :

Reproduisons schématiquement (dessin L), le premier et le deuxième cristal, à partir du haut de la photo H. L'arête du dièdre vertical (face à l'observateur) s'aperçoit sous la forme d'une ligne noire, a.

Examinons maintenant le huitième cristal, à partir du haut, dans la même photo. Par suite d'une inclinaison différente (nous employons des lames d'examen incurvées) l'incidence de la lumière a changé et la réflexion de la ligne de changement de plan se dessine alors en clair (dessin M).

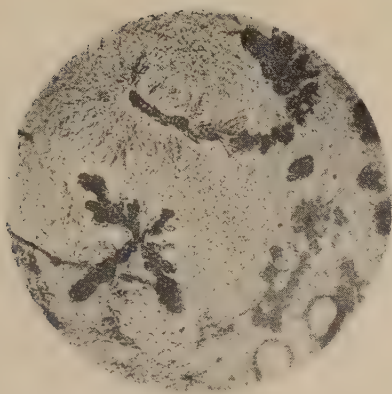
Quant au plan de clivage (accolement des bases des deux pyramides constituant le cristal), les neuvième et dixième cristaux, toujours à partir du haut dans le cliché H, nous permettent de l'apercevoir (dessin N) sous forme d'une ligne sombre.

NOTA. — Quoique, au cours de la prise de ces clichés, la mise au point ait été très soigneusement faite, un petit diaphragme employé et les vibrations évitées dans toute la mesure du possible, les contours des cristallisations apparentes dans ces micro-photographies sont beaucoup moins nets qu'examinés à l'œil nu.

Ce léger flou provient de plusieurs causes :

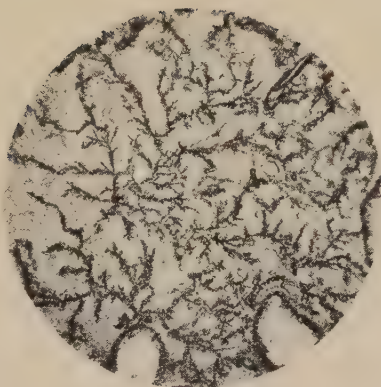
En premier lieu, il y a toujours une légère courbure du plan focal pour les différentes longueurs d'onde du spectre, aucun objectif n'étant absolument achromatique et le mono-chromatisme parfait du foyer lumineux étant également difficile à obtenir.

En deuxième lieu, les lames planes d'examen ne nous permettant pas de faire cristalliser une quantité suffisante d'insaponifiable, nous avons du utiliser des lames possédant en leur centre un évidement et, mieux encore, employer des « verres de montre ». De ce fait, la partie visible dans le champ du microscope, étant constitué par une calotte sphérique, les bords de la préparation n'étaient jamais sur le même plan que le centre.



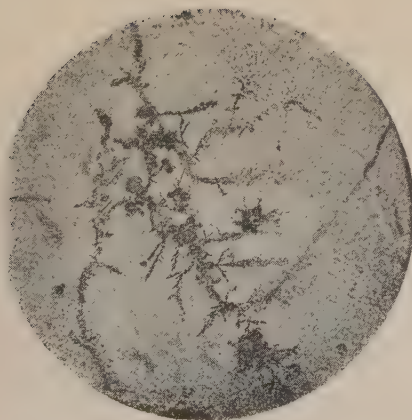
G = 100 x

Photo A



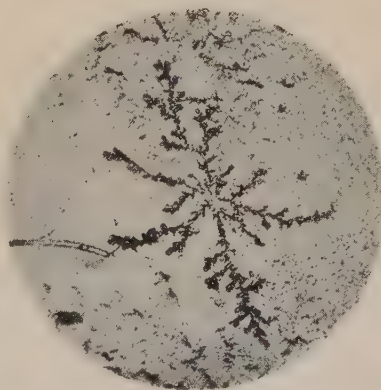
G = 100 x

Photo B



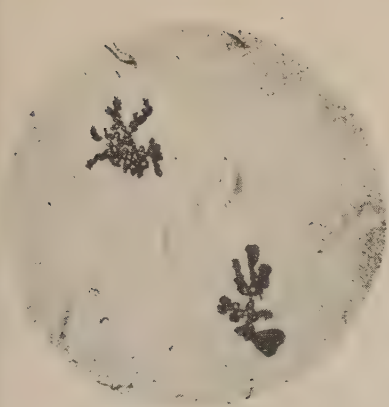
G = 100 x

Photo C



G = 100 x

Photo D



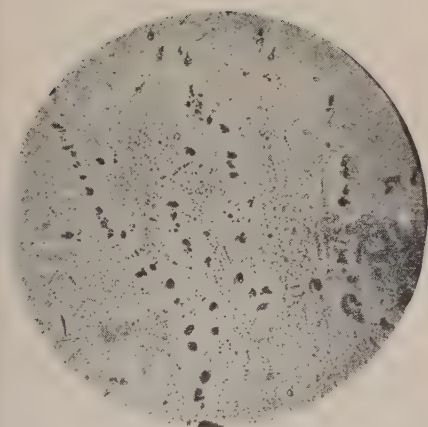
G = 100 x

Photo E



G = 100 x

Photo F



G = 100 x

Photo G



G = 1.000 x

Photo H

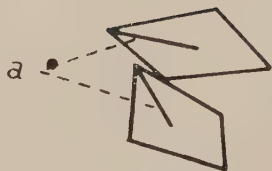


G = 1.000 x

Photo 1



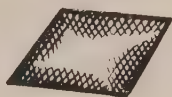
Dessin J



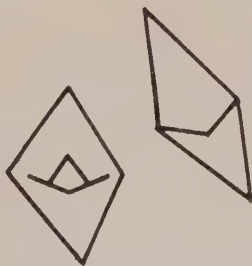
Dessin L



Dessin K



Dessin M



Dessin N

SI NOUS CONSIDÉRONS LES CATALYSEURS EMPLOYÉS :

Qu'en aucun cas ils n'accélérent sensiblement la vitesse de réaction.

Qu'à l'optimum de concentration en glucides, ils ne paraissent pas indispensables (exp. 19, 114, 71 et 79).

Qu'en milieu aseptique leur présence ne paraît pas utile.

Qu'en milieu septique, et pour des concentrations en glucides en deçà et au delà de l'optimum, l'acide sulfurique se révèle utile dans le cas du glucose et le bicarbonate de sodium dans le cas du saccharose.

CONCLUSIONS : Ces substances ne peuvent donc être assimilées à des catalyseurs proprement dit.

Elles jouent vraisemblablement ici le rôle d'agents microbiocides.

SI NOUS CONSIDÉRONS LA DURÉE NÉCESSAIRE A CETTE SYNTHÈSE :

Que cette dernière est, d'une part très lenté, puisque nos premières expériences limitées au début à 30 jours (voir chapitre « Technique des expériences »), ne nous ont donné aucun résultat positif ; que, d'autre part, dans un seul cas, nous avons constaté une augmentation appréciable après deux mois (exp. 46) et, dans deux cas seulement, une forte majoration après six mois (exp. 18 et 19). Toutes les autres macérations ont demandé quinze mois pour élaborer une quantité importante d'huile (supérieure à 20 %).

SI NOUS CONSIDÉRONS LA STÉRILITÉ DU MILIEU :

Que la stérilisation proprement dite, par la vapeur d'eau sous pression, ne joue pas un rôle primordial, puisque, dans trois cas (exp. 99, 65 et 71), les milieux n'étaient pas stériles.

Constatons cependant que, dans deux de ces cas (exp. 99 et 65), les macérations avaient été acidifiées, ce qui, de ce fait, inhibait toute prolifération micro-organique.

Par conséquent, si la stérilisation à l'autoclave ne s'impose pas, il est néanmoins préférable d'empêcher tout développement cryptogamique ou bactérien. Sur ces huit cas, il y en a, en effet, sept où, par un procédé ou par un autre (stérilisation par la vapeur ou adjonction d'une substance étrangère), tout développement micro-organique avait été arrêté.

EN RÉSUMÉ : Nous pouvons résumer les observations de ce chapitre par le tableau suivant :

Augmentation de la teneur en huile en fonction de :

La concentration en glucides ..	Maximum pour 5 %.
La variété des glucides	Maximum pour le glucose.
La maturation des fruits	Maximum pour les fruits à maturation complète.
La durée de macération	15 mois au minimum.
La stérilité du milieu	Empêcher toute prolifération micro-organique.

TABLEAU N° 17
pour l'étude des conditions optima de synthèse

Expériences ayant donné une augmentation d'huile de 20 % et plus — Température : 20°

N° EXPÉR.	MATURATION	GLUCIDES	CATALYSEUR	DURÉE (mois)	STÉRILITÉ DU MILIEU	% HUILE	% AUGMENTATION
19	O. N.	gluc. 5 %		6	aseptique	84,8	28,5
99	O. V. N.	gluc. 10 %	SO ⁴ H ²	15	septique	83,4	26,4
46	O. V.	gluc. 0,1 %	SO ⁴ H ²	2	aseptique	82	24,2
114	O. V. N.	mannite 5 %		15	aseptique	80,8	22,4
65	O. V.	sacch. 10 %	CO ³ HNa	15	septique	80,5	22
71	O. V. N.	gluc. 5 %		15	septique	80,2	21,5
79	O. V. N.	gluc. 5 %		15	aseptique	79,5	20,5
18	O. N.	gluc. 10 %		6	aseptique	79,3	20,1

RESUME GENERAL ET UTILISATION PRATIQUE EVENTUELLE

En possession des résultats acquis, revoyons à présent toute la question, résumons-la et essayons d'en dégager quelques faits essentiels :

1° Margaillan a observé que des grignons d'olive mis en présence de matières sucrées donnent lieu à une élaboration d'huile.

2° Ludecke a également établi ce fait, en partant de graines diverses.

3° A notre tour, nous avons constaté qu'il était possible, en faisant macérer un certain temps de la pulpe d'olive dans une solution sucrée, de retirer une plus grande quantité d'huile que l'on n'en aurait obtenue si l'on avait seulement extrait celle-ci de la pulpe fraîche.

Nous avons défini, par ailleurs, les règles nous permettant d'obtenir ce résultat.

L'intérêt pratique de ces recherches est indéniable, en raison des difficultés actuelles d'approvisionnement en matières grasses ; mais, du point de vue industriel tout au moins, ces observations ne peuvent acquérir toute leur valeur :

1° Que si la synthèse est suffisamment importante par rapport à la quantité de pulpe ou de solution sucrée utilisée.

2° Que si cette synthèse ne constitue pas un fait fortuit, autrement dit que, si l'obtention de cette huile nouvelle ne s'est pas produite au cours d'expériences effectuées dans des conditions très particulières et difficiles à reproduire par la suite.

3° Que si l'on peut établir des règles bien définies au moyen desquelles il soit possible, plus tard, de reproduire cette synthèse, en toute certitude.

En ce qui concerne le premier et le deuxième point, si nous revoyons les expériences du tableau n° 17, nous constatons qu'elles nous permettent toutes d'obtenir une majoration de la teneur en huile de l'ordre de 20 à 28,5 % (en outre 29 expériences nous ont

donné une augmentation variant de 1 à 20 %). Ces taux sont intéressants même si l'on se place uniquement sur le terrain industriel.

De plus, ces expériences comportent chacune des facteurs différents, il ne peut donc être question ici de résultats fortuits ; les conditions sont bien définies, il n'y a aucune difficulté majeure qui puisse en entraver une réalisation ultérieure, même effectuée sur une plus grande échelle.

En troisième lieu, il reste à définir les grandes lignes de conduite grâce auxquelles une technique pourrait être mise au point en ce qui concerne la préparation de macérations destinées à donner une quantité appréciable d'huile.

Dans les lignes qui vont suivre, nous nous proposons donc :

1° De rechercher les conditions optima de synthèse, en classant ensemble toutes les expériences « positives » ; ou tout au moins, pour clarifier la question, celles qui nous ont donné plus de 20 % d'augmentation.

2° D'ébaucher un projet de réalisation industrielle.

ETUDE DES CONDITIONS OPTIMA DE SYNTHÈSE

Si, maintenant, nous reprenons les expériences précédentes et que nous groupions ensemble celles qui nous ont donné une augmentation d'huile de 20 % et plus, nous constatons (voir tableau N° 17) :

SI NOUS CONSIDÉRONS LES CONCENTRATIONS EN GLUCIDES :

Que sur ces huit cas, il y en a quatre pour lesquels cette augmentation a été provoquée par une macération dans un glucide à la concentration de 5 % (exp. 19, 71, 79 et 114).

CONCLUSIONS : Ainsi que nous l'avions déjà fait remarquer, c'est donc bien à ce taux que le rendement est le meilleur ; l'examen des représentations graphiques N°s I, II et III le démontre d'ailleurs clairement.

SI NOUS CONSIDÉRONS LA VARIÉTÉ DE SUCRE UTILISÉ :

a) Que sur les quatre expériences précitées et comportant une solution à 5 %, il y en a trois dont l'hydrate de carbone est du glucose.

b) Que c'est encore une solution de glucose à 5 % qui a donné la plus forte teneur en huile (exp. 19).

CONCLUSIONS : Les solutions de glucose à 5 % donnent donc, d'une part, les résultats les plus élevés, et, d'autre part, les résultats les plus constants.

Si (dans des essais industriels, par exemple) on utilisait des mélasses, on devrait donc auparavant :

Primo : les transformer en glucose par hydrolyse (à l'aide d'acide sulfurique de préférence, cet acide s'étant révélé favorable à la synthèse dans plusieurs des cas) ;

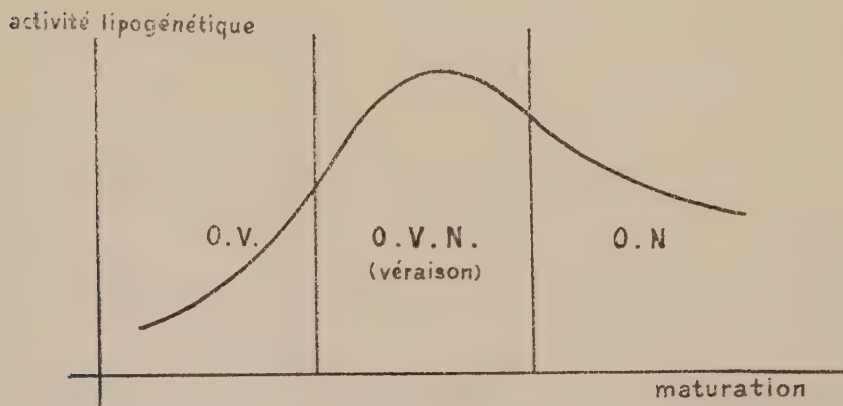
Secundo : les diluer, afin d'arriver à la concentration optimale de 5 % ; ou bien, si l'on ne désire pas pousser trop loin cette dilution, adjoindre à la matière sucrée déjà hydrolysée, une petite quantité d'acide sulfurique (voir l'expérience 99).

De même, si l'on avait affaire à des mélasses ou à des jus peu sucrés (teneur inférieure à 5 %) et que l'on ne désire pas effectuer de concentration, l'adjonction d'acide sulfurique serait également indiquée (voir l'expérience N° 46).

SI NOUS CONSIDÉRONS LE STADE DE MATURATION DES FRUITS :

Que sur les huit cas du tableau N° 17, il y en a sept dans lesquels les olives utilisées étaient, soit en période de véraison, c'est-à-dire commençant à noircir (quatre cas : exp. 99, 114, 71 et 79), soit même entièrement noires (deux cas : exp. 19 et 18).

CONCLUSIONS : Pour l'apport de ferments actifs, il y a donc lieu d'utiliser des fruits arrivés à maturité complète. Fait normal, puisque nous savons que la synthèse in situ des lipides se produit surtout activement au dernier stade de la maturation. L'allure de la courbe des activités lipo-génétiques devant vraisemblablement avoir l'allure suivante :



Courbe dont la forme se retrouve d'ailleurs dans la majorité des phénomènes biologiques.

Ici également, nous retrouvons un optimum (correspondant à la période de véraison (O. V. N.), en deçà et au delà duquel l'activité lipo-génétique décroît.

PROJET DE REALISATION INDUSTRIELLE

En possession des règles que nous venons de définir, nous pouvons envisager maintenant la transposition des méthodes mises au point au laboratoire en méthodes sur une plus grande échelle, utilisant des quantités de produits relativement importantes.

Naturellement, la mise sur un pied industriel demanderait de nombreuses études adaptées à chaque cas particulier et concernant :

- 1° L'emploi de matières premières économiques.
- 2° L'appareillage.
- 3° Les rapports respectifs des quantités de chacun des constituants.
- 4° Les antiseptiques.
- 5° Les durées optima de macération.

MATIÈRES PREMIÈRES :

La recherche d'un apport économique de matières premières s'impose en premier lieu. Le glucose ou le saccharose purs, trop chers, devant être ici abandonnés, nous pouvons faire appel à des mélasses, résidus de saccharification, eaux mères de sucreries, etc..., comportant encore une notable partie de glucides.

Leur richesse restante en sucre devra être dosée et, le cas échéant, ramenée à l'optimum de concentration que nous avons établi aux chapitres précédents.

On hydrolysera ensuite le saccharose pour le transformer en mono-saccharides (glucose et lévulose), afin d'obtenir un meilleur rendement, ou bien on fera l'économie de ce dédoublement en utilisant les solutions de di-saccharides telles quelles. Ceci serait à examiner en mettant en balance, d'une part, le rendement et, d'autre part, les frais inhérents à une telle transformation.

Enfin, on pourrait aussi se servir de graines, fruits ou tubercules amylacés, impropres à la consommation et par conséquent bon marché, tels que les marrons d'Inde, par exemple. On en extraierait l'amidon, on dédoublerait ensuite celui-ci et on emploierait enfin les hexoses obtenus pour la préparation des macérations.

LIPOFORMATEURS :

Ils pourront être apportés soit par des fruits frais, soit par des grignons, soit encore par des liqueurs fermentaires purifiées.

Dans le premier cas, les olives devront être cueillies très mûres. Le ramassage s'effectuera au moins un mois plus tard qu'on n'a l'habitude de le faire dans nos régions ; par contre, en Tunisie et en Italie, par exemple, où les indigènes font la cueillette seulement lorsque le fruit est complètement noir, l'époque n'aura pas à être modifiée.

Les olives seront passées au broyeur, l'huile en excès pourrait sans doute être recueillie à part immédiatement, sans nuire à l'apport de lipase. Ce point est à éclaircir. Dans ce cas, il n'y aurait aucune modification dans l'obtention de l'huile vierge de première pression.

Enfin la pulpe, une fois broyée, au lieu d'être mise en scourtins, serait acheminée dans des cuves contenant déjà la solution sucrée ramenée à la concentration voulue et, le cas échéant, acidifiée ou alcalinisée.

Il serait également possible de préparer à l'avance des liqueurs diastasiques par la méthode classique : macération de la pulpe d'olive en milieu aqueux ou glycérolé, puis filtration sur toile pour éliminer les débris de cellules du fruit.

La purification et la concentration de ces liqueurs pourrait même être obtenue en provoquant dans celles-ci la précipitation du ferment par l'alcool, suivie d'une redissolution du précipité, ou son adsorption par un gel colloïdal.

Nous obtiendrions ainsi un extrait diastasique de longue conservation, prêt à servir à toute époque de l'année et qui, sous un faible volume, pourrait posséder un grand pouvoir lipo-synthétique ; malheureusement, nous nous éloignerions alors des conditions physiologiques dans lesquelles s'élaborent les lipides, autrement dit, par ces purifications successives, nous séparerions le ferment d'une partie de ses pro et co-ferments qui, in vivo, l'accompagnent toujours et ce ne pourrait être qu'au détriment de sa résis-

tance aux agents externes, ainsi que l'ont constaté Willstätter, Waldschmidt-Leitz, Colin, White et Théodoresco.

En l'absence de toute recherche sur le comportement des extraits ainsi obtenus, vis-à-vis des macérations sucrées, et aux fins de lipo-synthèse, il ne nous est pas possible d'affirmer que l'on retirerait un bénéfice quelconque de leur emploi, hors le fait que, sous cette forme, il serait possible de mettre en train des macérations en n'importe quelle saison.

Dans l'état actuel de nos connaissances sur ce sujet, il nous semble donc préférable d'utiliser la lipase brute, c'est-à-dire la pulpe simplement broyée et dont nous connaissons maintenant les possibilités, alors que les liqueurs concentrées et purifiées de lipase pourraient être la cause d'échecs imprévisibles.

Enfin se pose une nouvelle question : établir la quantité optimum de pulpe à faire macérer dans une quantité donnée de solution sucrée. Cette quantité pouvant d'ailleurs varier suivant que le glucide dissous est un mono ou un poly-saccharide.

En effet, malgré qu'il soit admis que les diastases puissent être capables de transformer un poids de substance hors de proportion avec leur propre poids, il n'en est pas moins vrai qu'il existe un rapport entre la quantité de ferment et la quantité de matière.

Michaëlis (1) et V. Henri ont observé que la vitesse de réaction est proportionnelle à la concentration moléculaire de l'enzyme (ce qui ne signifie pas grand'chose, puisque le poids moléculaire des diastases est encore, à ce jour, très imprécis ; il varie, en effet, suivant les auteurs, du simple au décuple).

Colin et Chaudun (2) ont défini ce rapport en établissant que la marche d'un processus bio-chimique dépend, non de la concentration propre en sucre (par exemple) et en diastase, mais bien du rapport des concentrations des constituants en présence.

D'autres auteurs ont essayé de mettre en équation l'allure de ces phénomènes diastasiques, mais l'étude des formules de Van Slyke, Barendrecht, V. Henri et Michaëlis (3) sortent du cadre de cette étude et nous entraînerait trop loin.

Enfin, Colin (4) a également montré que ce rapport

(1) MICHAELIS et MANTEN. — *Biochem. Z.*, 49, 333, 1913.

(2) COLIN et CHAUDUN. — *J. Chim. Phys.*, 20, 471, 1923.

(3) VAN SLYKE et CULLEN. — *Biol. Chem.*, 49, 141, 1914.

— BARENDRECHT. — *Chim.*, Pays-Bas, 1, 2, 1920.

(4) COLIN. — *Chim. Biol.*, 3, 263, 1921.

varie aussi suivant l'importance du poids moléculaire de la solution sucrée ; mais ici le problème se complique du fait que nous avons affaire à deux phénomènes successifs :

1° Désintégration du sucre ;

2° Elaboration de la matière grasse.

Il serait donc illusoire de chercher une précision mathématique et il est préférable de s'en tenir aux observations que l'on établira dans chaque cas particulier.

En résumé : il est indispensable que des essais systématiques soient faits et des résultats établis pour chaque série de cas, afin d'obtenir, du point de vue du rendement et du point de vue économique, des précisions sur les doses respectives des substances à mettre en présence qui, rappelons-le, varient avec la concentration, la nature du sucre, ainsi qu'avec la quantité et la nature du lipoformateur (variété de l'espèce, degré de maturation, etc. . .).

STÉRILISATION :

Enfin, la stérilisation à l'autoclave ne pouvant, pour des raisons d'ordre économique, être envisagée, il sera nécessaire d'adjoindre à ce mélange une certaine quantité d'acide sulfurique si nous employons du glucose, ou de bicarbonate de sodium si nous utilisons du saccharose.

Les quantités à ajouter aux macérations devant être déterminées en fonction de la concentration du milieu en glucides.

VEILLISSEMENT :

Il ne restera plus ensuite qu'à laisser vieillir celles-ci pour en retirer, au bout d'une durée à déterminer, soit par expression, soit par filtration, soit encore par solvant volatil, après élimination de l'excès d'eau, une quantité d'huile supérieure à celle que l'on aurait pu extraire en passant la pulpe à la presse immédiatement après broyage.

VITESSE DE RÉACTION :

En raison des phénomènes d'équilibre, dus à la réversibilité des actions enzymatiques, qui s'établissent au sein de ces macérations et qu'ont bien étudiés Croft Hill (1) en 1898, ainsi que Piutti et de Conno en 1928 (2), il ne faut pas songer à obtenir une transforma-

(1) CROFT HILL. — *J. Chem. Soc.*, 73, 634, 1898.

(2) PIUTTI et DE CONNO. — *Ann. Chim. Appl.*, 18, 468, 512, 1928.

tion complète du sucre. D'autre part, la vitesse de réaction intervient dans le calcul du rendement économique ; cette vitesse, uniforme pendant un certain temps, décroît ensuite (1) jusqu'au moment où la réaction atteint l'équilibre et cela au bout d'une très longue durée. Nous voyons donc que, du point de vue industriel, il faudra arrêter la macération lorsque la vitesse de lipogénèse sera devenue par trop réduite. En l'absence de toute donnée scientifique, ce temps sera à déterminer par essais successifs.

On pourrait également, afin de retarder l'apparition de cet équilibre, éliminer les produits de transformation au fur et à mesure de leur formation, en l'espèce les lipides, mais cela nécessiterait trop de manipulations et, partant, trop de frais. Il est plus simple, si l'on veut utiliser les solutions sucrées jusqu'à complet épuisement, de les deshuiler après un premier usage et de les faire resservir ensuite, en les concentrant le cas échéant, quoique l'on obtienne encore une oléo-synthèse appréciable avec des teneurs en glucides n'excédant pas 0,1 % (voir notre expérience N° 46).

UTILISATION DE L'HUILE :

Nous ne devons cependant pas oublier que, par suite du vieillissement et malgré les précautions prises pour éviter la prolifération des bactéries et des moisissures, cette huile aura pu subir des altérations et ne pourra sans doute pas être directement employée telle qu'elle pour l'alimentation. Par contre, elle donnerait, en stéarinerie, une excellente matière première en raison de la prédominance des acides gras concrets.

Après décoloration, désodorisation et neutralisation, elle pourrait servir aussi à la préparation des margarines ; ceci est également à étudier.

(1) COLIN. — Les Diastases. I. Doin, édit., Paris 1931.

— V. THOMAS. — Chimie organique, Dunod, édit., Paris 1932.

CONCLUSIONS

Le problème qui se posait à nous, lorsque nous avons entrepris ces recherches, était le suivant :

Etant donné que, dans certaines conditions, des graines oléagineuses mises à macérer dans une solution sucrée permettent d'obtenir, après vieillissement du mélange, une quantité d'huile supérieure à celle que l'on aurait pu retirer de ces graines, vérifier l'exactitude de ces observations en ce qui concerne l'emploi de pulpe d'olive comme vecteur de ferments et, dans l'affirmative :

a) Etudier tout d'abord chacun des facteurs entrant en jeu au cours de la lipogénèse ;

b) Emettre ensuite une opinion quant au processus d'élaboration de ces lipides aux dépens des glucides utilisés ;

c) Préciser enfin les conditions à réaliser pour l'obtention d'une quantité maximum d'huile avec, comme corollaire, l'ébauche d'une mise sur pied industrielle.

L'écueil principal fut, pour nous, l'absence de tous travaux antérieurs ; les quelques expériences de Ludecke et de Fiedler ne pouvant nous être d'aucun secours, puisque ces auteurs ne s'étaient servis que des graines sèches pour l'apport de diastases et n'avaient, en outre, fait aucune étude sur les variables pouvant jouer au cours du vieillissement des macérations.

Nous nous sommes donc proposé, en premier lieu, de transposer ces observations sur le plan de la lipogénèse en présence de pulpe d'olive. En possession de premiers résultats nettement positifs, nous avons alors orienté nos recherches vers l'étude rationnelle des différents facteurs contribuant à celle-ci et avons examiné plus particulièrement le comportement :

De certains catalyseurs. — Afin de vérifier si ces substances pouvaient être capables d'accélérer la rapidité de transformation.

De l'asepsie du milieu. — Afin d'examiner l'influence du développement des micro-organismes au cours du vieillissement.

De la maturation des olives. — Afin de nous rendre compte à quel stade de mûrissement ces fruits sont susceptibles d'apporter la quantité maximum de lipo-formateurs ou de les apporter au moment de leur activité optimum.

De la concentration en glucides. — Afin de rechercher l'optimum de concentration pour une synthèse maximum.

De la variété des glucides utilisés. — Afin d'examiner le comportement de ces lipoformateurs vis-à-vis de quelques composés ternaires autres que le glucose.

Ces recherches effectuées et une fois en présence de résultats établissant indéniablement la synthèse de lipides, nous avons formulé des hypothèses sur l'origine et les conditions de formation de ceux-ci en nous basant sur nos propres observations et avons enfin, eu égard à l'intérêt économique s'attachant à cette question, étudié sommairement les possibilités de réalisation industrielle.

Nous espérons que si les résultats que nous avons obtenu ont précisé certains points de cette lipogénèse — *in vitro* — et jeté quelques lueurs sur le processus de ces phénomènes bio-chimiques, nous aurons mené à bien la tâche que nous nous étions imposée.

VU ET APPROUVÉ :

Marseille, le 31 Juillet 1941

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

G. CORROY.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Aix, le 4 Août 1941

Le Recteur de l'Université,

PIERRE MARTINO.

BIBLIOGRAPHIE

- ARTHUS (M.). — *Précis de Chimie Physiologique*, Paris 1932. Masson, édit.
- BALLAND (A.). — *Les Aliments*, Paris 1907. Baillière, édit.
- BERTHELOT (C.). — *Carburants de Synthèse et de Remplacement*, Paris 1936. Dunod, édit.
- BERTRAND (G) et THOMAS. — *Guide des Manipulations de Chimie biologique*, Paris 1919. Dunod, édit.
- BONNET (J.). — *L'Olivier*, Paris 1924. Baillière, édit.
- CHAPELLE et RUBY. — *L'Huilerie Moderne*, Paris 1911. Libr. Agric. Mais. Rustique.
- COLIN (H.). — *Les Diastases, I*, Paris 1931. Doin, édit.
- COMBES (Raoul). — *La Vie de la Cellule Végétale, I, II, III*, Paris 1937. Armand Colin, édit.
- CRUESS (W.). — Mise en conserve d'olives vertes. *Americ. Chem. Abst.*, 1931, t. XXV, n° 7, p. 1294.
- CUISA et MANGINI (A.). — Utilisation des extraits aqueux des olives. *Americ. Chem. Abst.*, 1931, t. XXV, n° 10, p. 2316. *Ind. Chim.*, 1930, t. V, pp. 1461, 1464.
- DAVID (R.). — *Influence des températures élevées sur la vitalité des graines oléagineuses*, 1936. Thèse Doctorat ès Sc. Fac. des Sc. de Marseille.

- FIEDLER (F.). — Synthèse biologique des matières grasses. *Inst. Chem. Techn. Univers. Munster. Fette und Seifen*, mars 1938, t. XLV, pp. 183, 184, 185.
- FRANÇOIS (M.). — *Manipulations de chimie analytique appliquée*, Paris 1939. Le François, édit.
- JOACHINOGLU et PANAPOULOS. — Teneur en magnésium de certains aliments. *Americ. Chem. Abst.*, 1931, t. XXV, n° 12, p. 4065.
- JUELLE (H.). — *Les huiles végétales*, Paris 1921. Baillière, édit.
- LÉONE et OCCHIPINTI. — Distillation sèche des pulpes d'olives. *Ann. Chim. Appl.*, 1929, t. XIX, pp. 563, 568.
- LEWKOVITSCH. — *Technologie et analyse chimique des huiles, graisses et cires*, Paris 1909. Dunod, édit.
- LUDECKE (K.). — *Procédé pour produire des huiles et des graisses en partant d'hydrates de carbone. Cf. Seif. Zeit.*, 1938, t. LXV, p. 19. *Allg. Oel. Fettzeit.*, 1938, t. XXXV, p. 17.
- MANGINI (A.). — Les teneurs en sucre et en alcool des extraits aqueux de l'olive. *Ann. Chim. App.*, 1931, t. XXI, pp. 332, 337.
- MEUNIER (L.). — *Chimie des colloïdes*, Paris 1924. Baillière, édit.
- MULLER (G.-W.). — Fermentation secondaire des olives. *Americ. Chem. Abst.*, 1930, t. XXIV, n° 2, p. 665.
- NOCHOLS (L.-F.). — Variations de la teneur en sucres et substances diverses dans l'olive. *J. Agric. Reseach.*, 1930, t. XLI, pp. 89, 96.
- NUCCORINI (R.). — La mannite de l'olivier. *Boll. Ist. Passa.*, 1929, t. V, pp. 179, 202.
- La fonction de la mannite dans l'olive. *Ann. Chim. Appl.*, 1930, t. XX, pp. 535, 546.

- PANTANELLI (E.) et VERDESCA (S.). — La lipase des olives et l'huile d'olive. *Rend. C. Acad. Sci. Napoli*, 1930, t. XXXVI, pp. 76, 83.
- PARISI et DE VITRO (G.). — La mannite et autres substances présentes dans la pulpe d'olive. *Ann. Chim. Appl.*, 1931, t. XXI, pp. 323, 332.
- PASTUREAU. — *Eléments de pharmacie*, Paris 1924. Baillière, édit.
- PIZON. — *Anatomie et physiologie végétale*, Paris 1929. Doin, édit.
- POIRIE et PERRIER. — *Dictionnaire des Sciences*, Paris 1924. Delagrave, édit.
- RIVALS et MARGAILLAN. — *Matières grasses et industries dérivées*, Paris 1934. Baillière, édit.
- ROUX (U.). — *La grande industrie des acides organiques*, Paris 1912. Dunod, édit.
- RUBY (J.). — *Recherches morphologiques et biologiques sur l'olivier*. Thèse Fac. Sc. de Marseille, 1917.
- SANI (G.). — L'oleastène. *Atti. acad. Lincei* 1930 - 12 - p. 238-242.
- THOMAS. — *Chimie organique*, Paris 1932. Dunod, édit.
- TRAETTA MOSCA (F.). — Substances contenues dans le liquide d'expression des olives. *Ann. Chim. Appl.*, 1931, t. XXI, pp. 332, 377.
- WURTZ (A.). — *Dictionnaire de Chimie*, Paris. Garnier Frères.
-

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	7
HISTORIQUE ET BUT DU TRAVAIL	9
RAPPEL DES HYPOTHÈSES ADMISES SUR L'ORIGINE ET LA FORMATION DES LIPIDES	17
Origine glucidique des lipides	18
Origine alcoolique des lipides	24
PLAN DU TRAVAIL	27
DIVISION DE NOS RECHERCHES PERSONNELLES	31
MÉTHODES D'EXPÉRIMENTATION	33

PREMIÈRE PARTIE

CAS DES OLIVES VERTES ET NOIRES

CHAPITRE PREMIER. — <i>Etude comparative de l'action de l'eau et des solutions sucrées</i>	41
CHAPITRE II. — <i>Influence des catalyseurs</i>	43
En présence d'eau	44
En présence d'une solution sucrée	44
Conclusions générales	50
CHAPITRE III. — <i>Influence de l'asepsie du milieu</i>	55
En présence d'eau	55
En présence d'une solution sucrée	56
En présence d'une solution sucrée additionnée d'un cata- lyseur	58
Conclusions générales	61
CHAPITRE IV. — <i>Influence de la maturation des olives</i>	69
En présence d'eau	70
En présence d'une solution sucrée	70
En présence d'une solution sucrée additionnée d'un cata- lyseur	71
Conclusions générales	72

CHAPITRE V. — <i>Influence de la concentration en glucides</i>	73
Glucose	75
Saccharose	77
Remarque	78

DEUXIÈME PARTIE

CAS DES OLIVES CUEILLIES PENDANT LEUR VERAISON

CHAPITRE PREMIER. — <i>Etude comparative de l'action de l'eau et des solutions sucrées</i>	85
CHAPITRE II. — <i>Influence des catalyseurs</i>	87
En présence d'eau	87
En présence d'une solution sucrée	88
CHAPITRE III. — <i>Influence de l'asepsie du milieu</i>	91
En présence d'eau	91
En présence d'une solution sucrée	91
Conclusions générales	92
CHAPITRE IV. — <i>Influence de la concentration en glucides</i>	93

TROISIÈME PARTIE

CAS DE LA MANNITE

Mannite seule	96
Mannite associée à un catalyseur	97

QUATRIÈME PARTIE

ETUDE DE L'HUILE OBTENUE

CHAPITRE PREMIER. — <i>Hypothèse sur l'origine et la formation de cette huile</i>	103
CHAPITRE II. — <i>Caractères de l'huile obtenue</i>	109
Caractères physiques	109
Caractères chimiques	110
Conclusions	113
CHAPITRE III. — <i>Etude de l'insaponifiable</i>	115
Examen macroscopique	115
Examen microscopique	116

RÉSUMÉ GÉNÉRAL ET UTILISATION PRATIQUE ÉVENTUELLE

I. — <i>Etude des conditions optima de synthèse</i>	123
II. — <i>Projet de réalisation industrielle</i>	129

CONCLUSIONS

BIBLIOGRAPHIE	137
---------------------	-----

TABLEAUX

Recherches de Fiedler	12
-----------------------------	----

INFLUENCE DES CATALYSEURS

N° 1. Influence du bicarbonate de sodium	51
N° 2. » de l'acide acétique	52
N° 3. » de l'acide sulfurique	53
N° 4. » du sulfate de magnésium	53
N° 5. » des catalyseurs (résumé)	54

INFLUENCE DE L'ASEPSIE DU MILIEU

N° 6 En présence d'eau	64
N° 7 » d'une solution sucrée	65
N° 8. Glucose et bicarbonate de sodium	66
» acide acétique	66
N° 9. » acide sulfurique	67
» sulfate de magnésium	67
N° 10. Saccharose et bicarbonate de sodium	68
» acide acétique	68
» acide sulfurique	68

INFLUENCE DE LA MATURATION DES OLIVES

N° 11. Maturation des olives	73
------------------------------------	----

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN GLUCIDES

N° 12. Glucose	81
N° 13. Saccharose	82

CAS DE LA MANNITE

N° 14. Mannite seule	99
N° 15. Mannite associée à un catalyseur	99

CARACTERISTIQUES CHIMIQUES DES HUILES

N° 16.	113
-------------	-----

CONDITIONS OPTIMA DE SYNTHESE

N° 17. Pour l'étude des conditions optima de synthèse	127
---	-----
